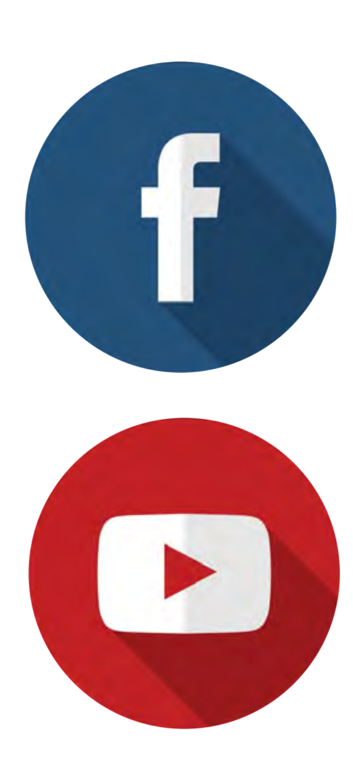
In the name of Allah, the Most Gracious, the Most Merciful







COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITE (CMH)

Pr. CHAIB S.
Service d'Immunologie / Hôpital Central de l'Armée.
DR Mohamed Seghir Nekache

Complexe Majeur d'Histocompatibilité

Plan:

Introduction

Rejet d'une greffe d'organe ou d'un tissu étranger

Résultat d'une réponse immunitaire contre des antigènes de transplantation ou d'histocompatibilité exprimés à la surface cellulaire de l'organe greffé.

Les tissus transplantés :

Histocompatibles → antigéniquement semblables : Tolérés par le receveur.
Histoincompatibles → antigéniquement différents : Rejetés par le receveur.

Un groupe de ces antigènes (très immunogènes et très polymorphes) sont qualifiés de majeurs :

- **→Rapidité du rejet,**
- **→Forte réponse allogénique humorale et cellulaire entre individus incompatibles lors d'une greffe.**

Ces antigènes sont codés par une série de gènes localisés sur différents loci sur une région chromosomique définissant le :

CMH (Complexe Majeur d'Histocompatibilité)

Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH)

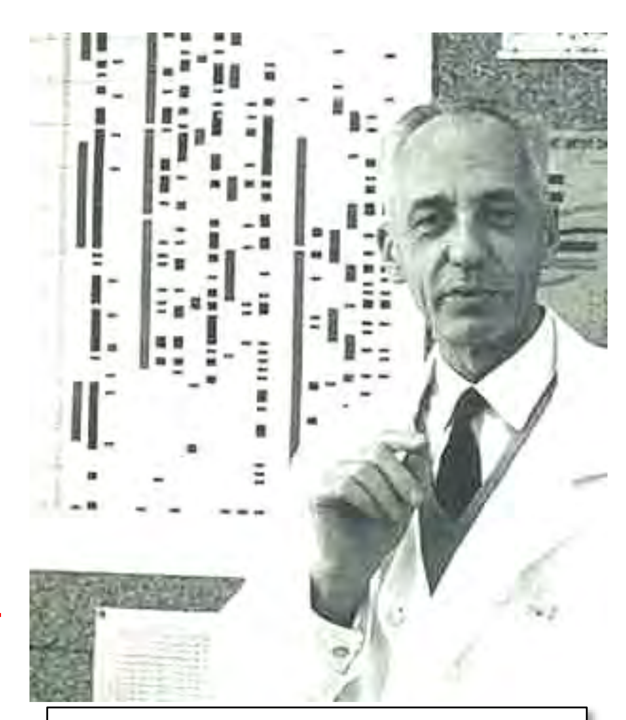
Existe chez tous les vertébrés ➔ Organisation génétique différente mais même fonction.



Peter Gorer (1907-1961)

- **En 1937, Peter Gorer : découvre le CMH murin ou H2 en observant des rejets de greffes de tumeurs sur des souris de lignées différentes.**

- **En 1952, Jean Dausset met en évidence une leucoagglutinine dans le sérum de certains patients polytransfusés et de certaines femmes multipares.**



Jean Dausset (1916 – 2009) Prix Nobel de Médecine 1980

- **En 1958, découvre le CMH humain ou Système HLA (Human Leukocyte Antigen), suite à la description de l'antigène MAC (1er antigène de ce complexe) sur les leucocytes**

Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH)

Identifiés à l'origine pour leur rôle essentiel dans la greffe, les produits du CMH ou molécules HLA ont pour fonctions essentielles :

1. **L'éducation des thymocytes ➔répertoire des lymphocytes T :**
   - **Sélection des lymphocytes T capables de reconnaitre un peptide antigénique associé à une molécule HLA.**
   - **Élimination des lymphocytes T auto-réactifs.**
2. **Contribution à la réponse immunitaire :**

Toute tentative de greffe entre individus génétiquement différents (hors jumeaux monozygotes) entraîne une **réaction de rejet**.

Le rejet du greffon est lié à la réponse immunitaire du receveur à des antigènes exprimés à la surface des membranes des cellules du donneur qui sont différents de ceux exprimés par celles du receveur.

- Ces antigènes sont dénommés **: Antigènes de transplantation ou d'histocompatibilité.**

- Codés par une série de gènes étroitement liés répartis sur différents loci sur une région chromosomique (**6**p21.31) définissant:

CMH : ***Complexe Majeur d'Histocompatibilité***
HLA: ***Human Leucocyte Antigen***

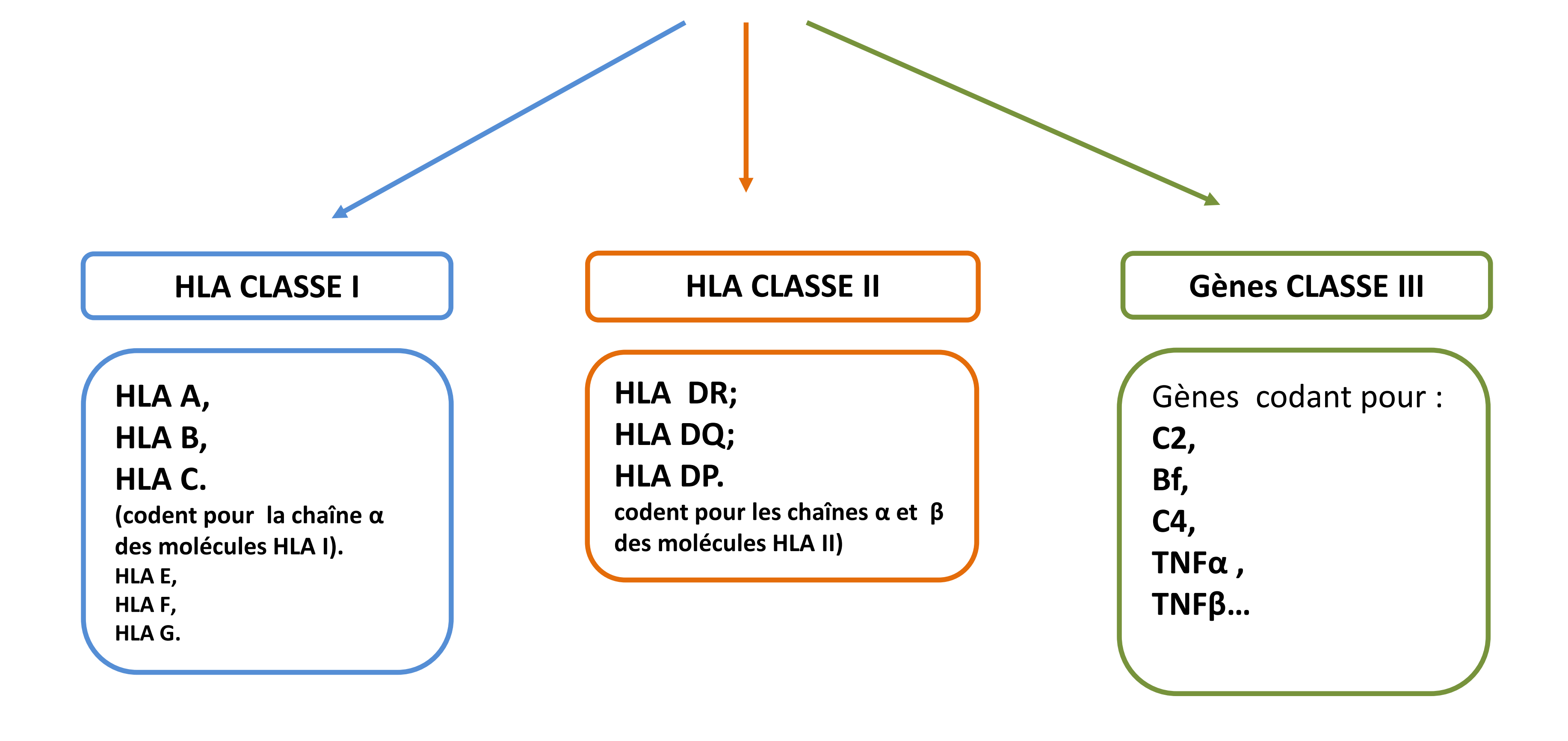
Molécules HLA ou Antigènes HLA:

⇒ Des glycoprotéines membranaires.

⇒ La cible des anticorps et des cellules T cytotoxiques au cours du rejet.

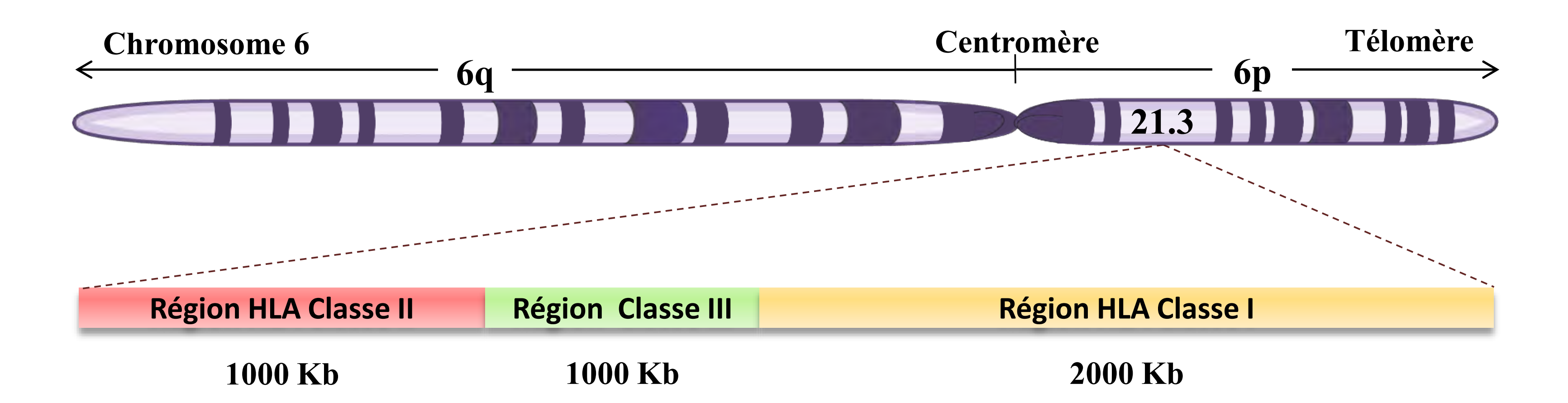
⇒ Polymorphes : ce polymorphisme régit les lois de la transplantation.

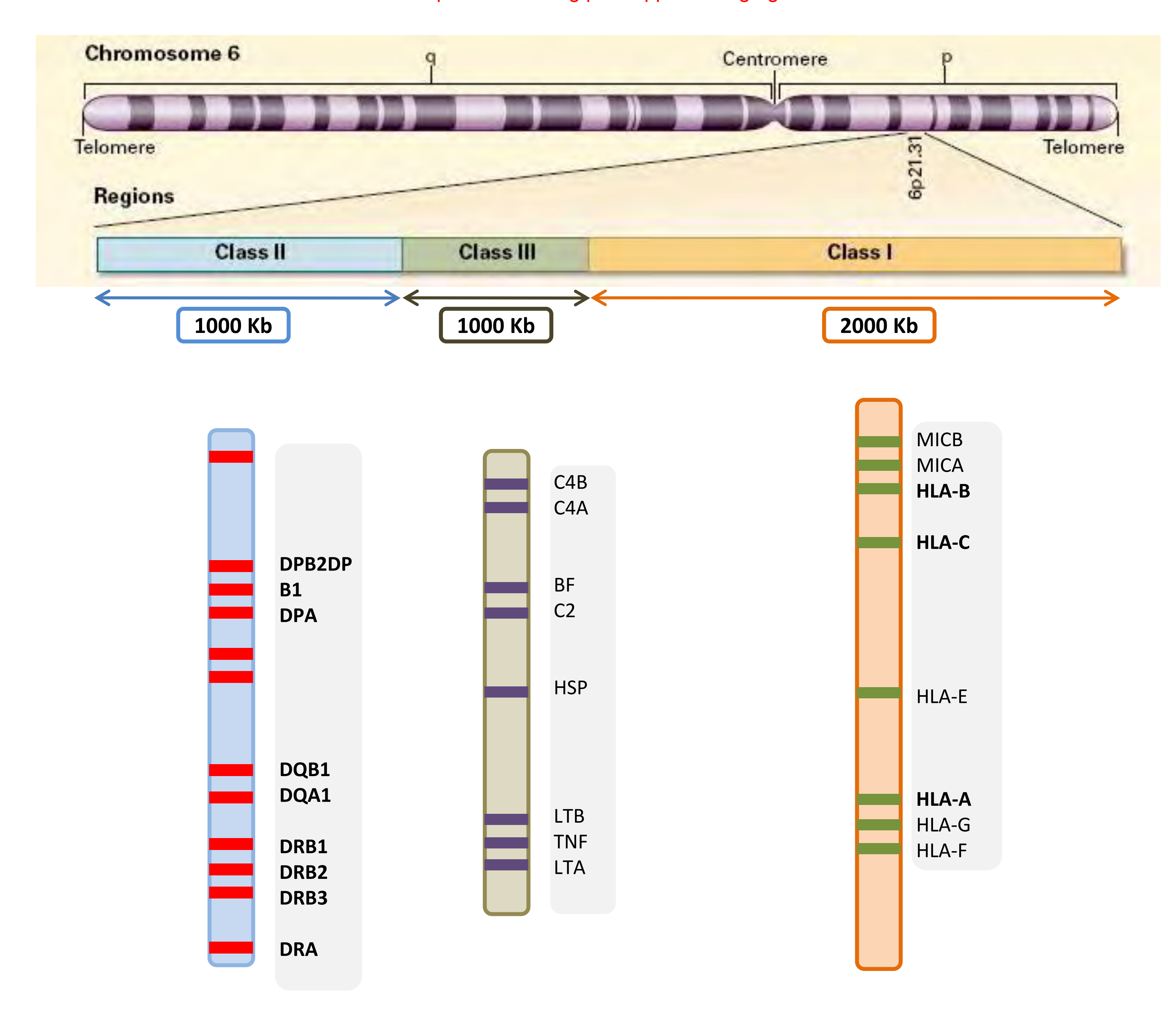
II- ORGANISATION GENETIQUE



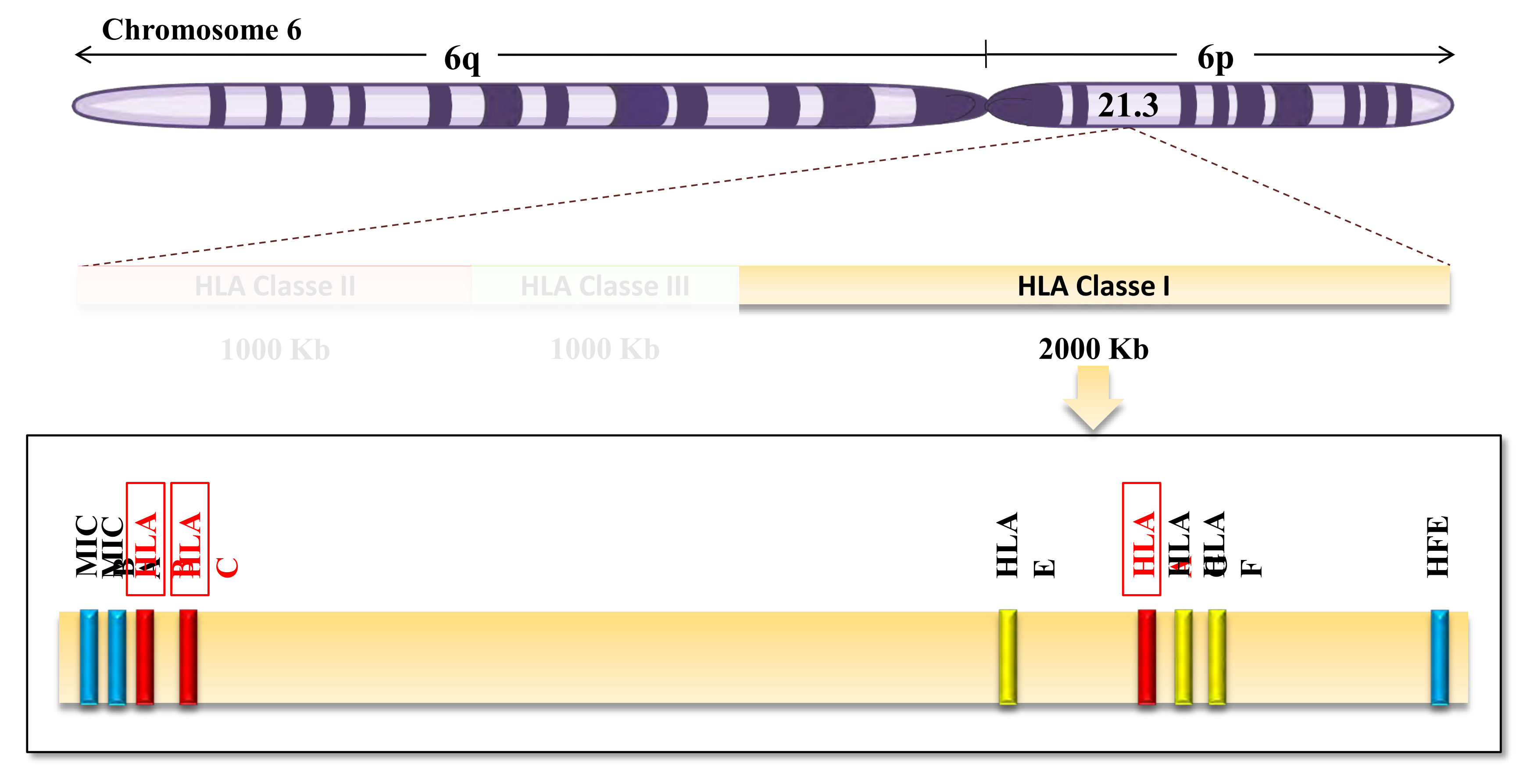
Organisation génétique du complexe HLA

Complexe multigénique (plus de 224 gènes, dont 128 seraient exprimés) d'environ 4000 kilobases (1/1000 du génome humain)




Chromosome 6
q
Centromere
p
Telomere
Telomere
6p21.31
Regions
Class II
Class III
Class I
1000 Kb
1000 Kb
2000 Kb
DPB2DP
B1
DPA
DQB1
DQA1
DRB1
DRB2
DRB3
DRA
C4B
C4A
BF
C2
HSP
LTB
TNF
LTA
MICB
MICA
HLA-B
HLA-C
HLA-E
HLA-A
HLA-G
HLA-F

Région HLA de classe I

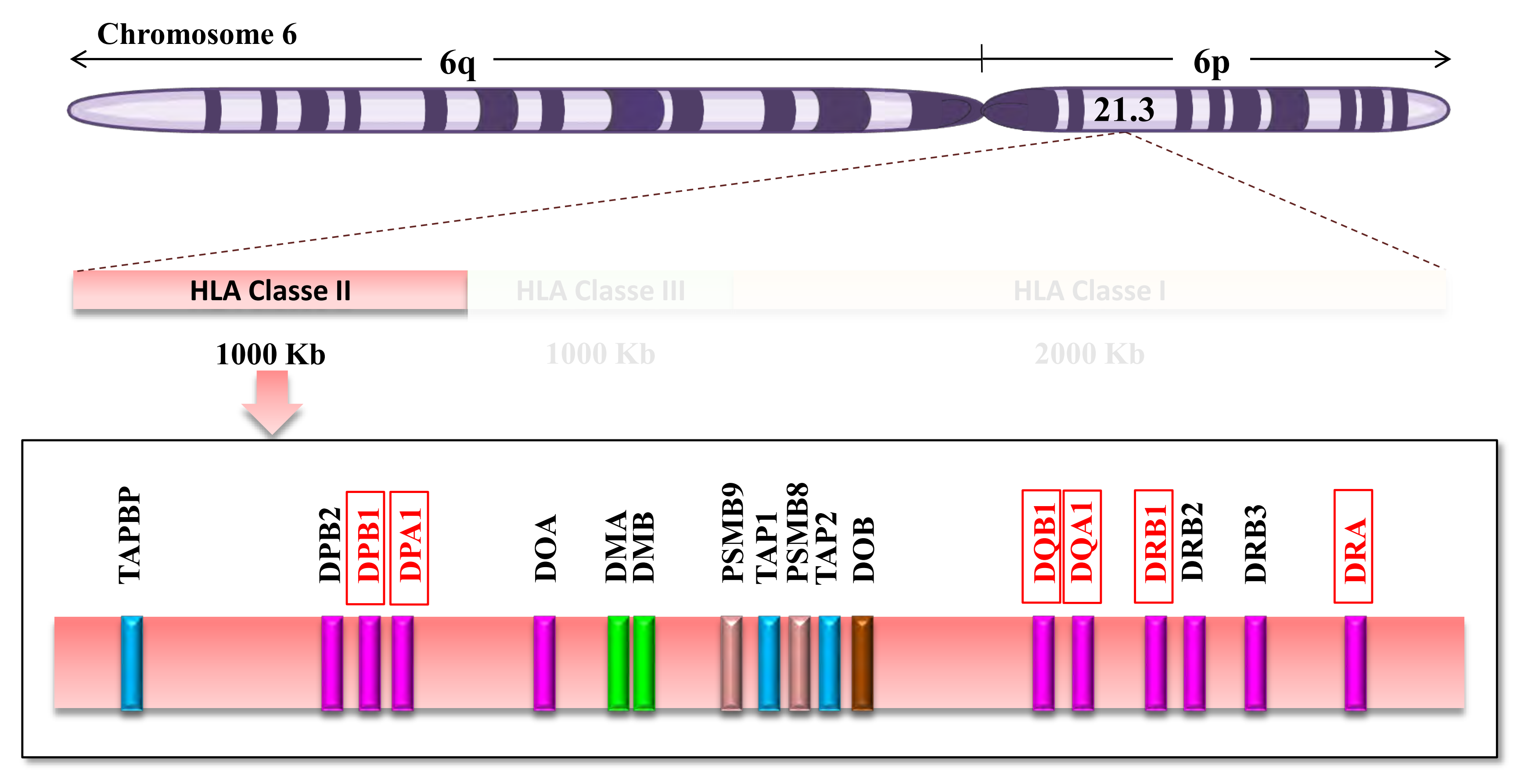


Gènes HLA-I :

- des molécules de présentation HLA-I classique ou Ia : HLA-A, B, C
- des molécules de présentation HLA-I non-classiques ou Ib : HLA-E, F, G: rôles dans la tolérance et la réponse NK
- HLA-I like : MIC A et B ➔ rôle dans la réponse NK

MICA/B : MHC class I associated antigen A/B

Région HLA de classe II



Gènes de classe II classiques : DR, DQ, DP

Pour les 03 loci il existe pour chacun d'eux:

Des gènes A (DRA, DQA, DPA) qui codent pour une chaine α

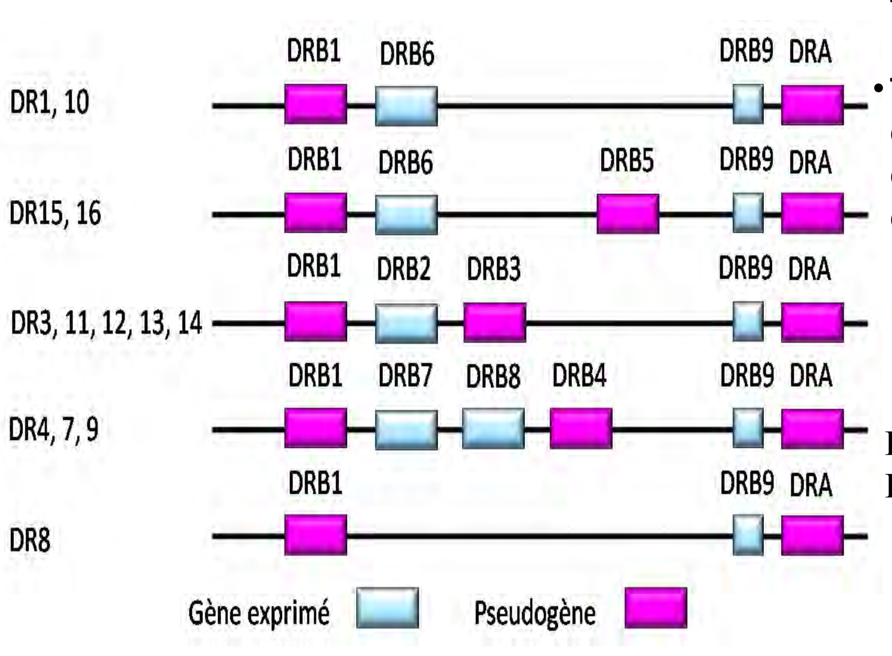
Des gènes B (DRB, DQB, DPB) qui codent pour une chaine β

L'assemblage de ces deux chaines constitue la molécule HLA de classe II

Locus HLA-DP/DQ :

- **Deux gènes fonctionnels : DPA1/DQA1 et DPB1/DQB1**

Locus HLA DR



Organisation génomique du locus DR

- **Un seul gène DRA monomorphe qui s'associe au gène DRB1 pour former la 1ère molécule DR αβ1, présente chez tous les individus.**

- **Trois autres gènes DRB3, DRB4, DRB5, selon l'haplotype, codant pour la chaine β3, β4 et β5 qui s'associent à la chaine α, pour former une 2ème molécule DR à la surface cellulaire.**

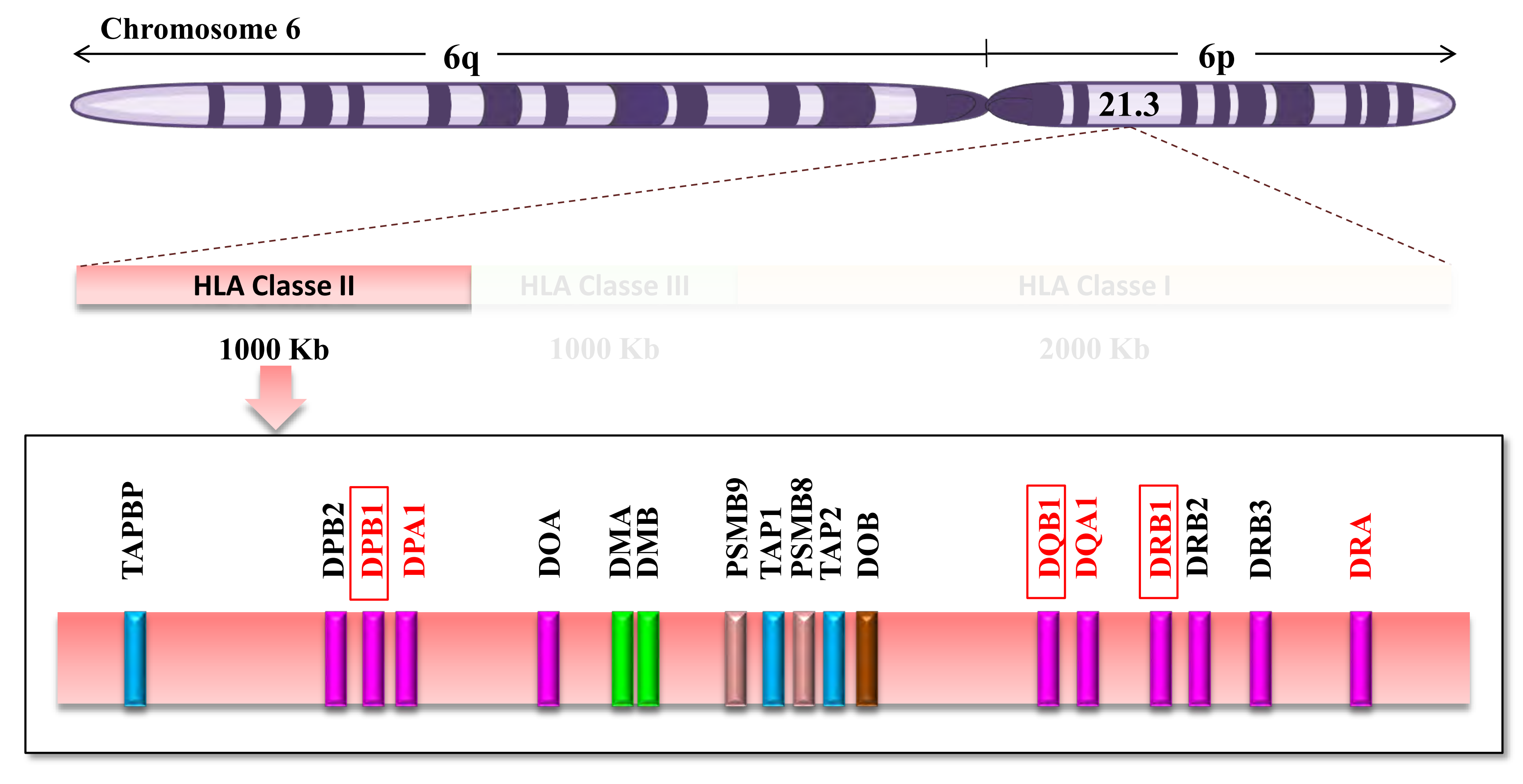
DRB3, DRB4, DRB5 sont associés à certaines molécules DRB1:

DRB3 pour DR3, DR5, DR6
DRB4 pour DR4, DR7 et DR9
DRB5 pour DR2

Pas de 2ème molécule DR si l'individu est DR1, DR8, DR10.

Les gènes DRB2, DRB6, DRB7, DRB8, DRB9 sont des pseudogènes.

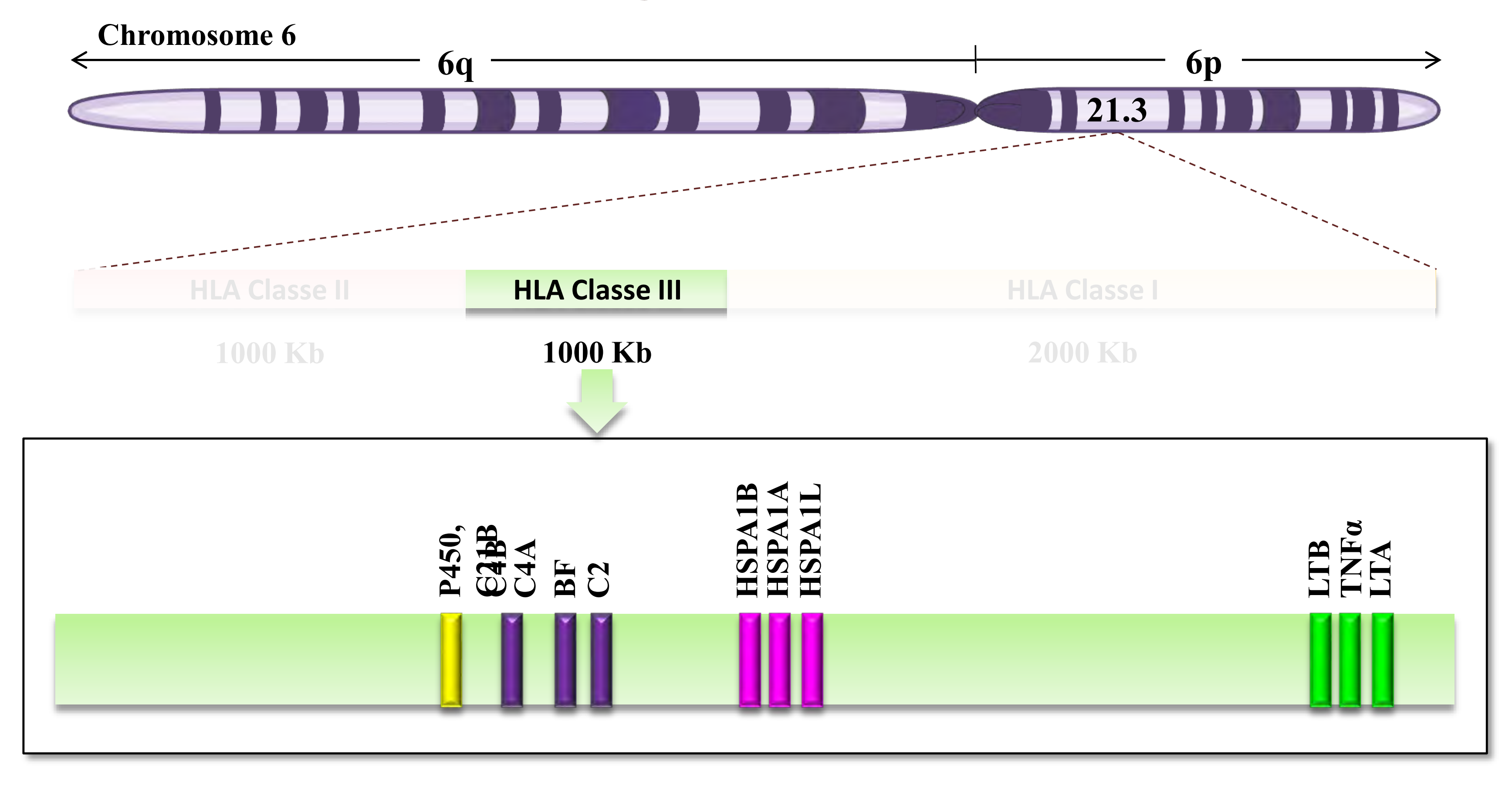
Région HLA de classe II



Autres gènes : LMP2 et LMP7: Production
TAP1 et TAP2 : Transport
Tapasine, DO, DM : Processus de charge

} des peptides pour les présenter aux molécules HLA de classe I ou II.

Région classe III



Gènes classe III :

Dont certains impliqués dans la réponse immune :

➔composants du complément (C2 ,C4, facteur B),

➔TNFα, LTβ , protéines du choc thermique (HSP).

Aucun rôle dans la présentation de peptides antigéniques, ni dans l'histocompatibilité

HSP : Heat Shock Protein

II- ORGANISATION GENETIQUE

Complex	HLA							
MHC class	II			III		I		
Region	DP	DQ	DR	C4, C2, BF		B	C	A
Gene products	DP αβ	DQ αβ	DR αβ	C' proteins	TNF-α TNF-β	HLA-B	HLA-C	HLA-A

Les gènes de classe III n'ont aucun rôle dans la présentation d'antigènes

Seuls les gènes de classe I et classe II (HLA A, B, C, DR, DQ, DP) codent pour les antigènes d'histocompatibilité





Particularités des gènes HLA de classes I et II

II- ORGANISATION GENETIQUE

Caractéristiques du système HLA

Les gènes HLA sont caractérisés par:

- **Polymorphisme,**
- **La liaison étroite,**
- **Codominance,**
- **Le déséquilibre de liaison.**

1- Le polymorphisme

- Le système HLA : système multigénique
    - Plusieurs gènes HLA classe I
    - Plusieurs gènes HLA classe II

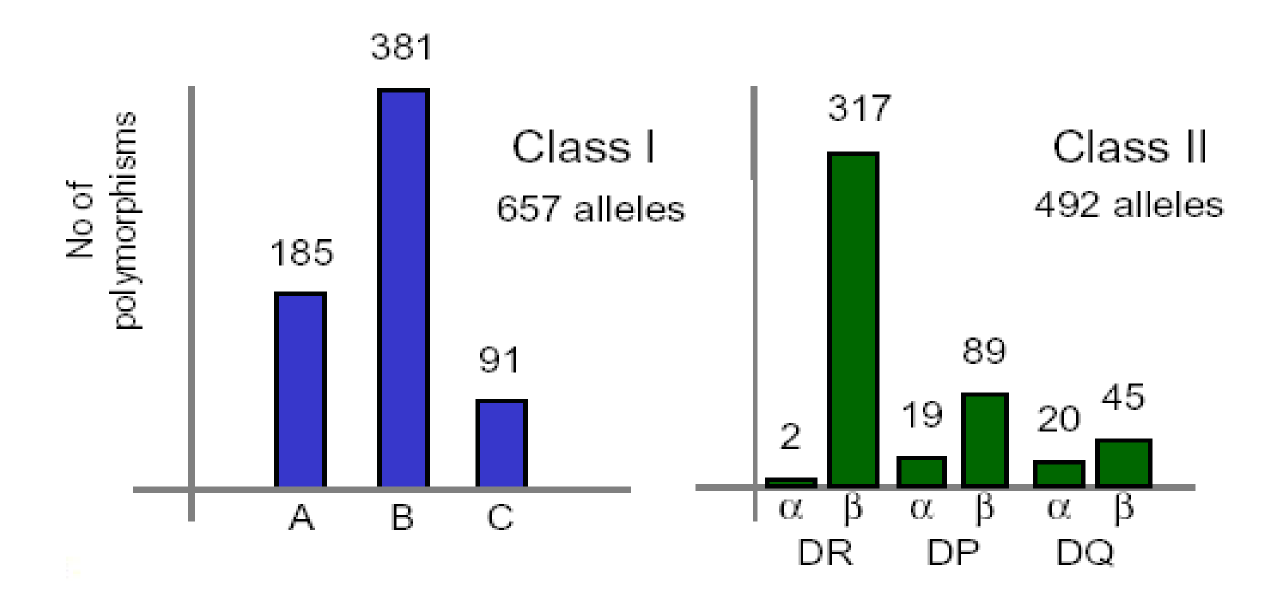
- **Le polymorphisme** correspond au fait que chaque gène est **multiallélique:**
    - 1 gène → Plusieurs allèles dans la population
    - 1 allèle → 1 hallotype.

La variabilité est le support du polymorphisme

C-à-d c'est le degré de différence entre deux molécules mesurée en pourcentage **d'acides aminés** différents (molécule HLA) ou de **nucléotides** différentes (gène HLA)

Polymorphisme des molécules du CMH

Chez l'homme, plus de 1200 allèles ont été identifiés pour le CMH



Les gènes HLA sont les gènes **les plus polymorphes** connus.

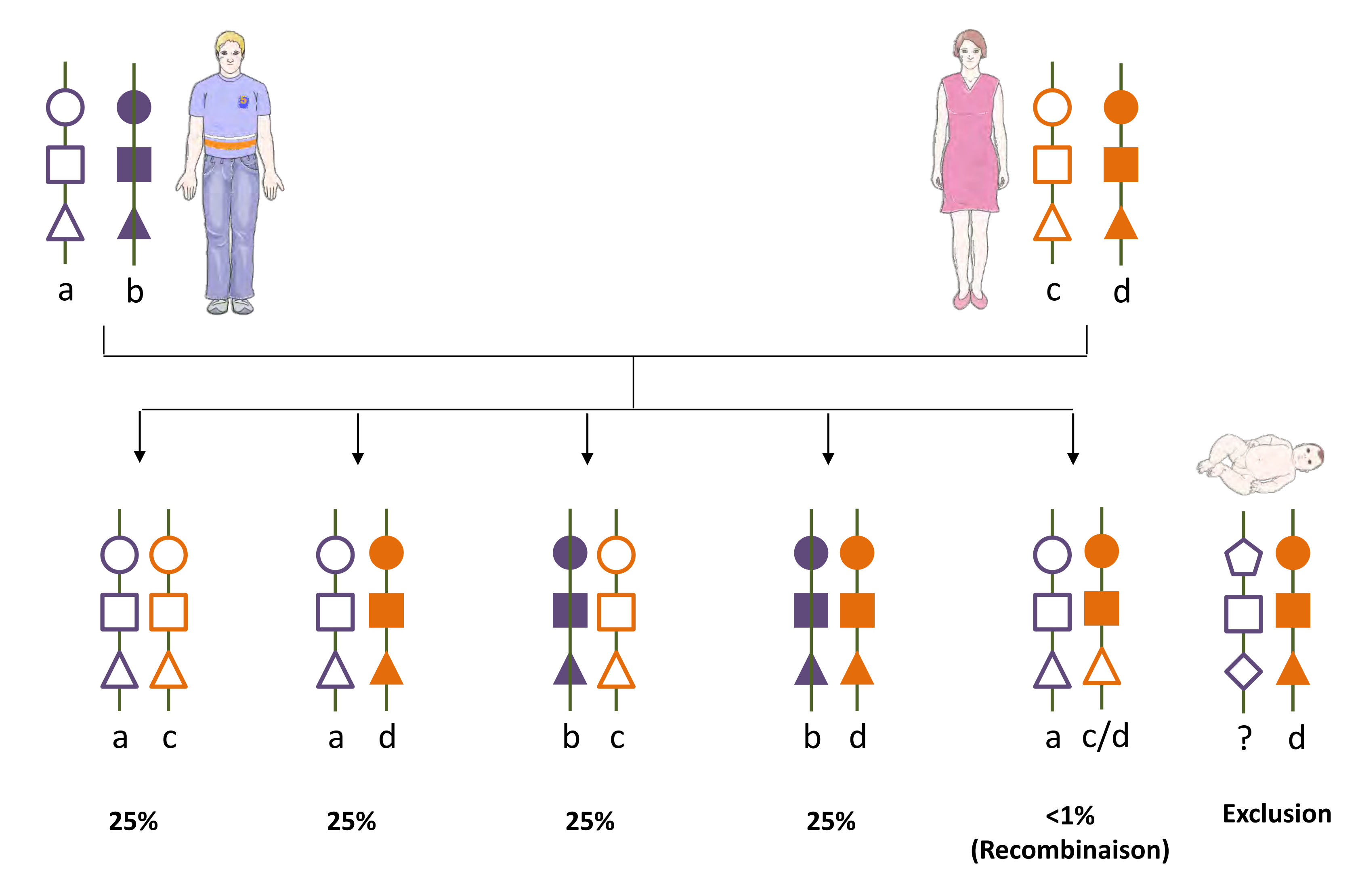
Si on prend en compte les loci HLA A, B, C, DR, DQ, DP, toutes les spécificités et tous les allèles décrits, le nombre théorique des phénotypes est supérieur à **$4x10^{30}$.**

Ce polymorphisme explique également la difficulté à apparier deux individus compatibles HLA en dehors de la fratrie lorsqu'une greffe est envisagée !!!

2- Liaison étroite

Les loci HLA A, B, C, DR, DQ, DP sont **distincts** mais **étroitement liés** sur le même chromosome.

⇒ La transmission des gènes se fait **en bloc.**



3- Expression codominante:

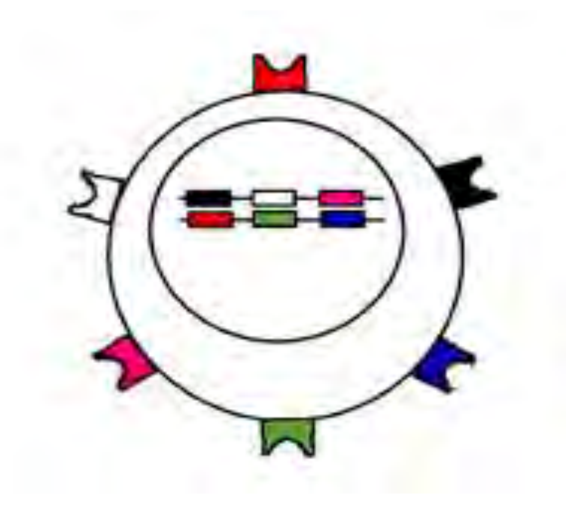
Chaque allèle sur chaque haplotype est exprimé et son produit protéique est détecté à la surface cellulaire.

* **Haplotype**: les gènes de chaque locus portés par un même chromosome.

Ex: A1, B8, DR3.

* **Génotype**: la somme des deux haplotype.

Ex: A1, B8, DR3.
A3, B7, DR4.



* **Phénotype**: la numération des antigènes HLA d'un individu.

Ex: A1, A3, B8, B7, DR3, DR4.

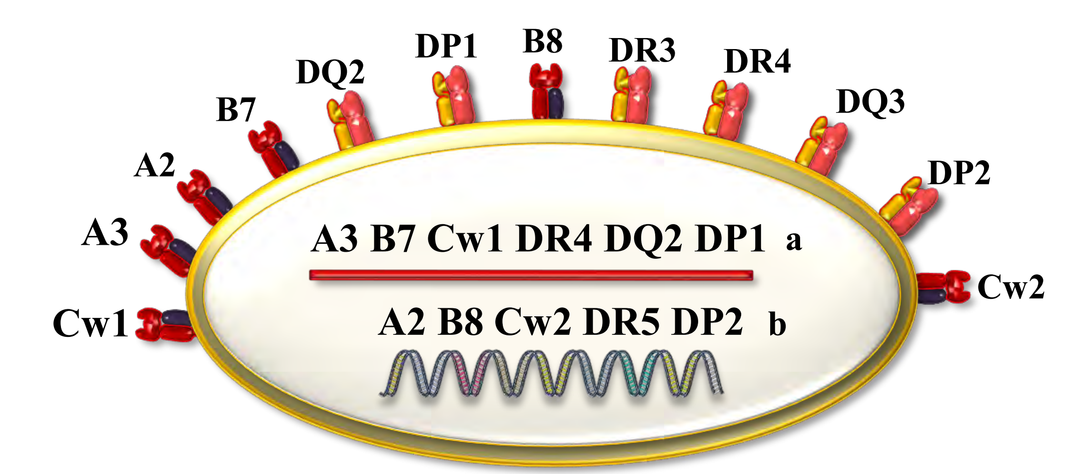
Au total, le phénotype HLA d'un sujet comprend:

- **2** molécules HLA **A;**
- **2** molécules HLA **B;**
- **2** molécules HLA **C;**
- **2, 3** ou **4** molécules HLA **DR;**
- **2** molécules HLA **DP;**
- **2** molécules HLA **DQ.**

Sauf homozygotie
Ex: A1, A1
DR4, DR4

Expression codominante

Les molécules codées par chaque haplotype sont co-exprimées à la surface cellulaire



Au total, un individu hétérozygote peut exprimer 12 à 14 molécules HLA:

2 molécules HLA-A, 2 B, 2 C,
2 à 4 DR, 2 DQ, et 2 DP.
Et son phénotype HLA sera:
A2 A3; B7 B8; Cw1 Cw2; DR3 DR4; DP1 DP2; DQ2 DQ3

Déséquilibre de liaison

Certains allèles d'un locus sont associés, préférentiellement ,avec des allèles d'un autre locus. Cette

Association plus fréquente que ne le voudrait le hasard : ➔ Déséquilibre de liaison.

- ***Variables selon les ethnies:***
  - **Caucasoïdes A1 B8 DR3 (4%)**
  - **Africains A30 B42 DR3 (2%)**
  - **Asiatiques A24 B52 DR15 (8%)**
  - **Amérindiens A24 B35 DR4 (4%).**

- ***D'autant plus forts que les loci sont proches :*** **Ex : CW4 B35**

- ***Très fort entre DR et DQ :*** **Ex :**

  DQ2 ➔ DR7 , DR9 , DR17

  DQ4 ➔ DR4 , DR8 , DR18

- ***Des marqueurs utiles pour l'anthropologie.***

- ***Entraînent une réduction du polymorphisme***

Un polymorphisme extrême

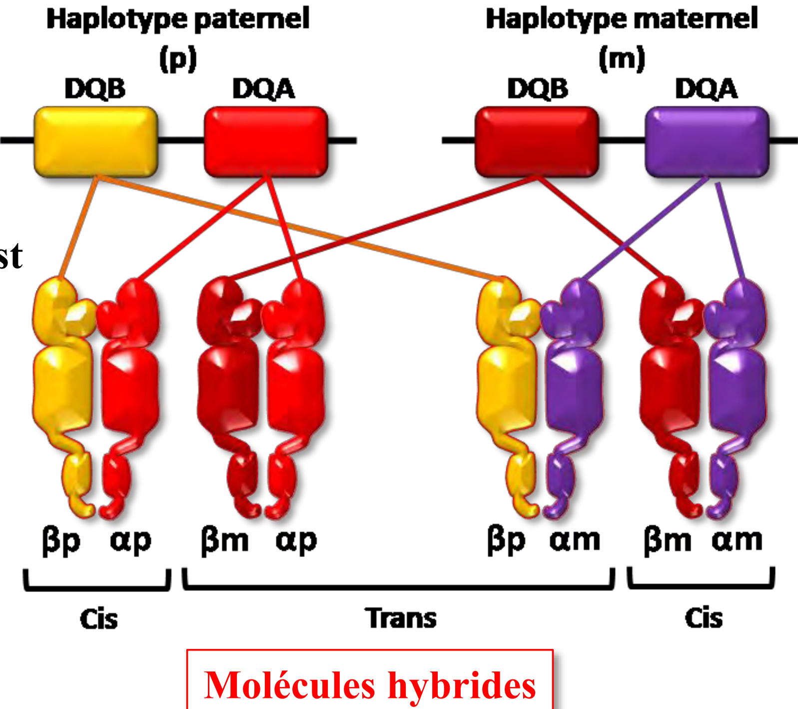
La diversité (polymorphisme) porte sur:

- **Le nombre de loci (6 séries alléliques : A, B, C, DR, DQ, DP)**
- **Le nombre élevé de formes alléliques (reflet de différences nucléotidiques) à chaque locus.**
- **Pour les gènes HLA II ➔ À la diversité des gènes et des loci s'ajoute une diversité combinatoire des chaînes α et β**

➔les molécules HLA de classe II ont la particularité de pouvoir s'associer à une chaine α et une chaine β provenant de chacun des deux chromosomes (Paternel et Maternel) ➔ augmentation de la diversité des molécules HLA et des poches à peptides pour un même individu.

La diversité des gènes HLA dans la population est générée par :

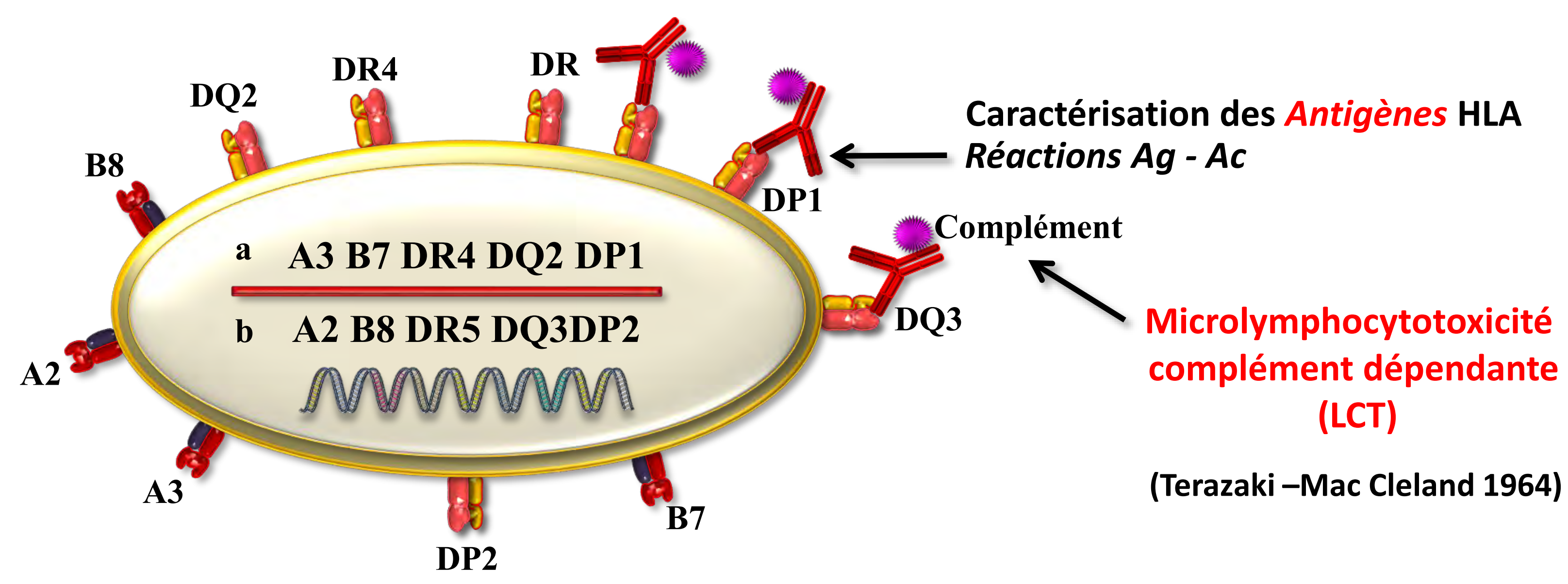
- **Duplications (gènes HLA de classe II +++)**
- **Mutations ponctuelles**
- **Conversions Géniques**



Étude du polymorphisme

Sérologie

Définition des spécificités HLA de classe I et II.



- **Les alloanticorps (multipares) ou anticorps monoclonaux utilisés peuvent reconnaître, soit :**
  - **Des épitopes privés correspondant aux segments polymorphes spécifiques antigènes (A3, DR4);**
  - **Des épitopes publiques qui sont partagés entre différents antigènes (BW4, BW6, DR53);**
  - **Des splits sérologiques (A9: A23, A24; DR2: DR15, DR16).**
- **Certaines spécificités partageant des séquences d'AA formant des épitopes antigéniques, sont regroupées sous le groupe de réactions croisées: CREG :**

Ex : CREG A1 : A1, A3, A11, A36 ➔ Épitopes Partagés ➔ A1 A3 A11 | A1 A11 | A1 A3

Polymorphisme HLA vu par sérologie

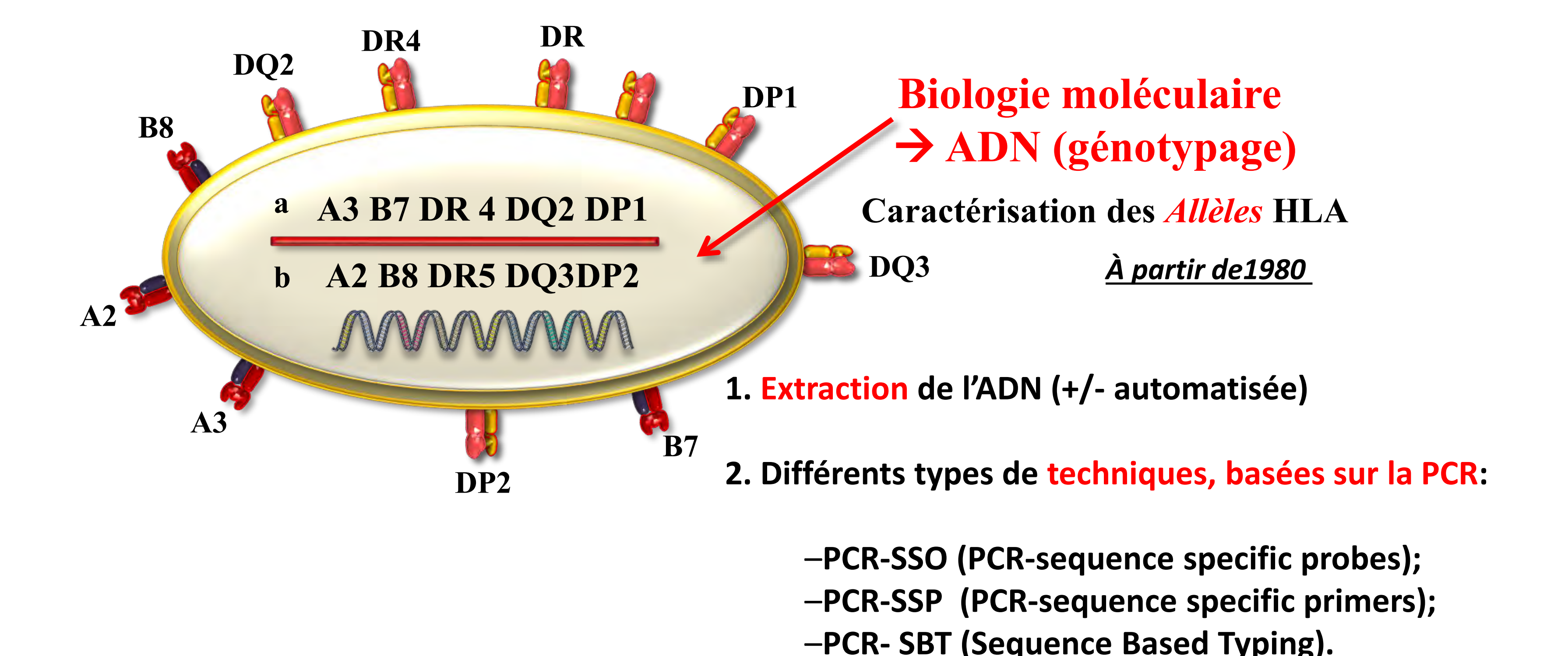
A	B		Cw	DR	DQ
A1	B5	B49(21)	Cw1	DR1	DQ1
A2	B7	B50(21)	Cw2	DR103	DQ2
A203	B703	B51(5)	Cw3	DR2	DQ3
A210	B8	B5102	Cw4	DR3	DQ4
A3	B12	B5103	Cw5	DR4	DQ5(1)
A9	B13	B52(5)	Cw6	DR5	DQ6(1)
A10	B14	B53	Cw7	DR6	DQ7(3)
A11	B15	B54(22)	Cw8	DR7	DQ8(3)
A19	B16	B55(22)	Cw9(w3)	DR8	DQ9(3)
A23(9)	B17	B56(22)	Cw10(w3)	DR9	
A24(9)	B18	B57(17)		DR10	
A2403	B21	B58(17)		DR11(5)	
A25(10)	B22	B59		DR12(5)	
A26(10)	B27	B60(40)		DR13(6)	
A28	B2708	B61(40)		DR14(6)	
A29(19)	B35	B62(15)		DR1403	
A30(19)	B37	B63(15)		DR1404	
A31(19)	B38(16)	B64(14)		DR15(2)	
A32(19)	B39(16)	B65(14)		DR16(2)	
A33(19)	B3901	B67		DR17(3)	
A34(10)	B3902	B70		DR18(3)	
A36	B40	B71(70)		DR51	
A43	B4005	B72(70)		DR52	
A66(10)	B41	B73		DR53	
A68(28)	B42	B75(15)			
A69(28)	B44(12)	B76(15)			
A74(19)	B45(12)	B77(15)			
A80	B46	B78			
	B47	B81			
	B48	Bw4			
		Bw6			

100 spécificités sérologiques	21	46	10	18	9

Étude du polymorphisme

Biologie moléculaire

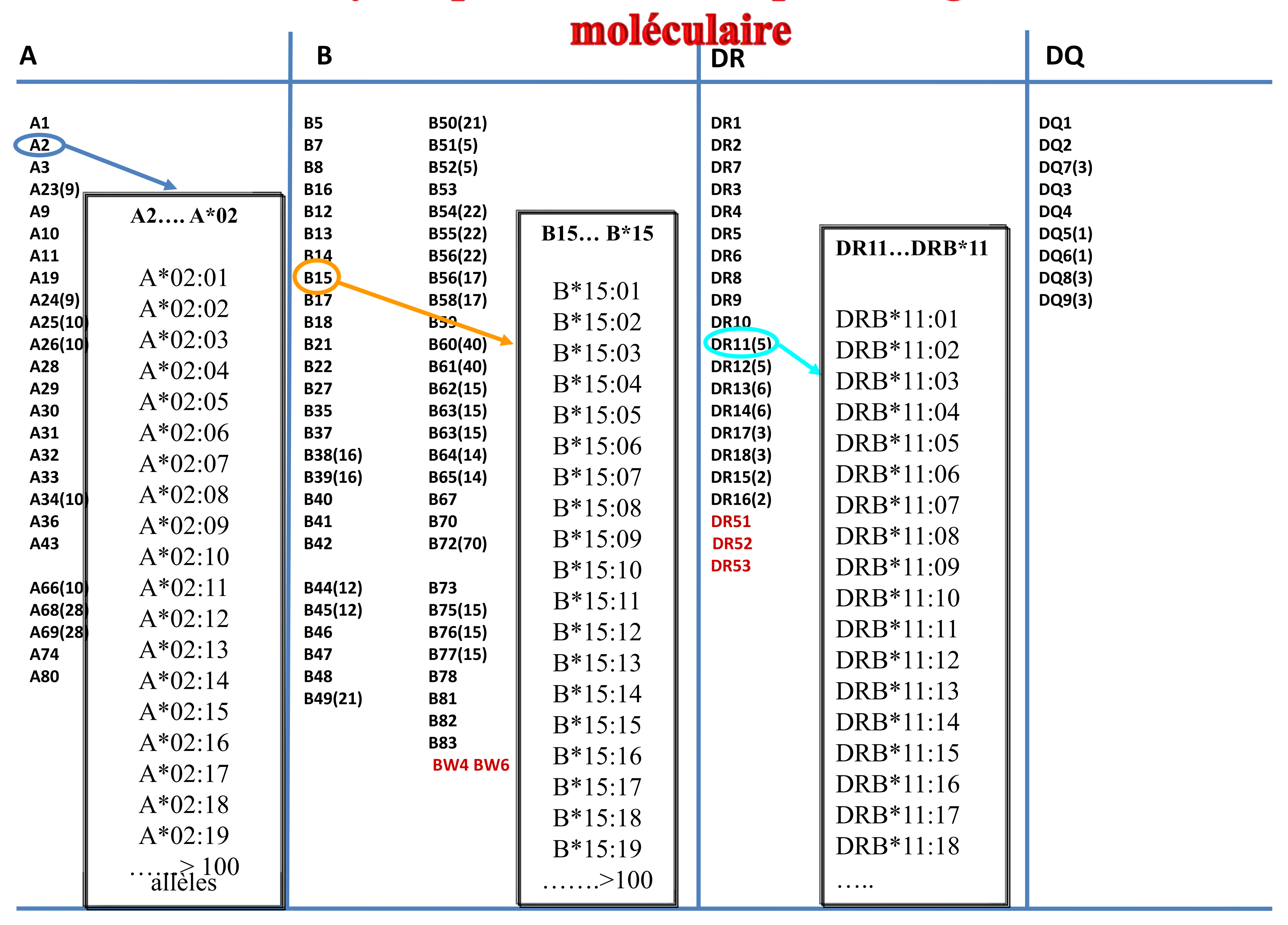
Définition des allèles au niveau de l'ADN:
Étude des exons 2 et 3 pour la classe I et de l'exon 2 pour la classe II.



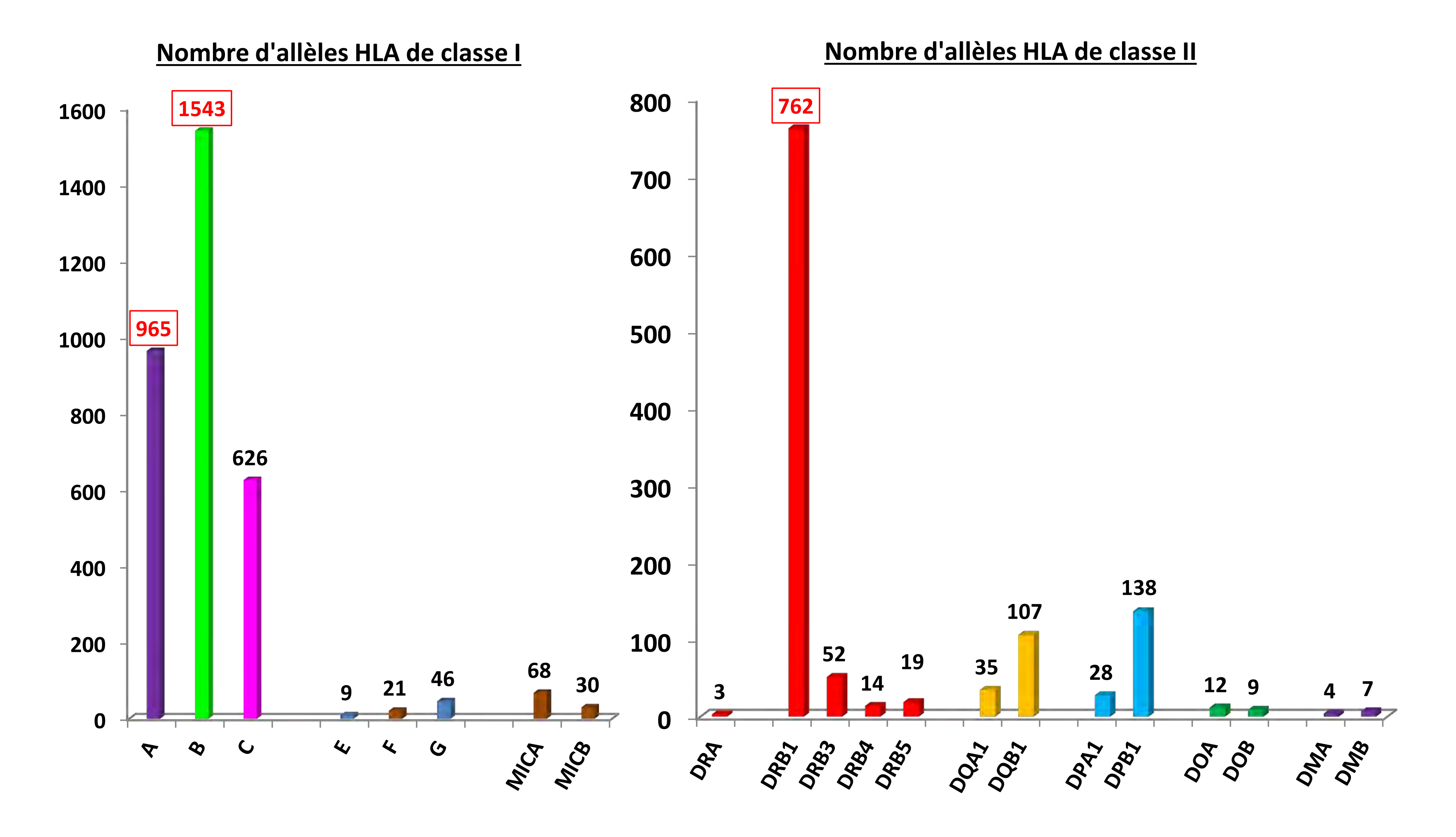
1. **Extraction de l'ADN (+/- automatisée)**
2. **Différents types de techniques, basées sur la PCR:**
   - PCR-SSO (PCR-sequence specific probes);
   - PCR-SSP (PCR-sequence specific primers);
   - PCR- SBT (Sequence Based Typing).

Le polymorphisme HLA, déjà important au niveau antigénique, devient considérable au niveau génique.

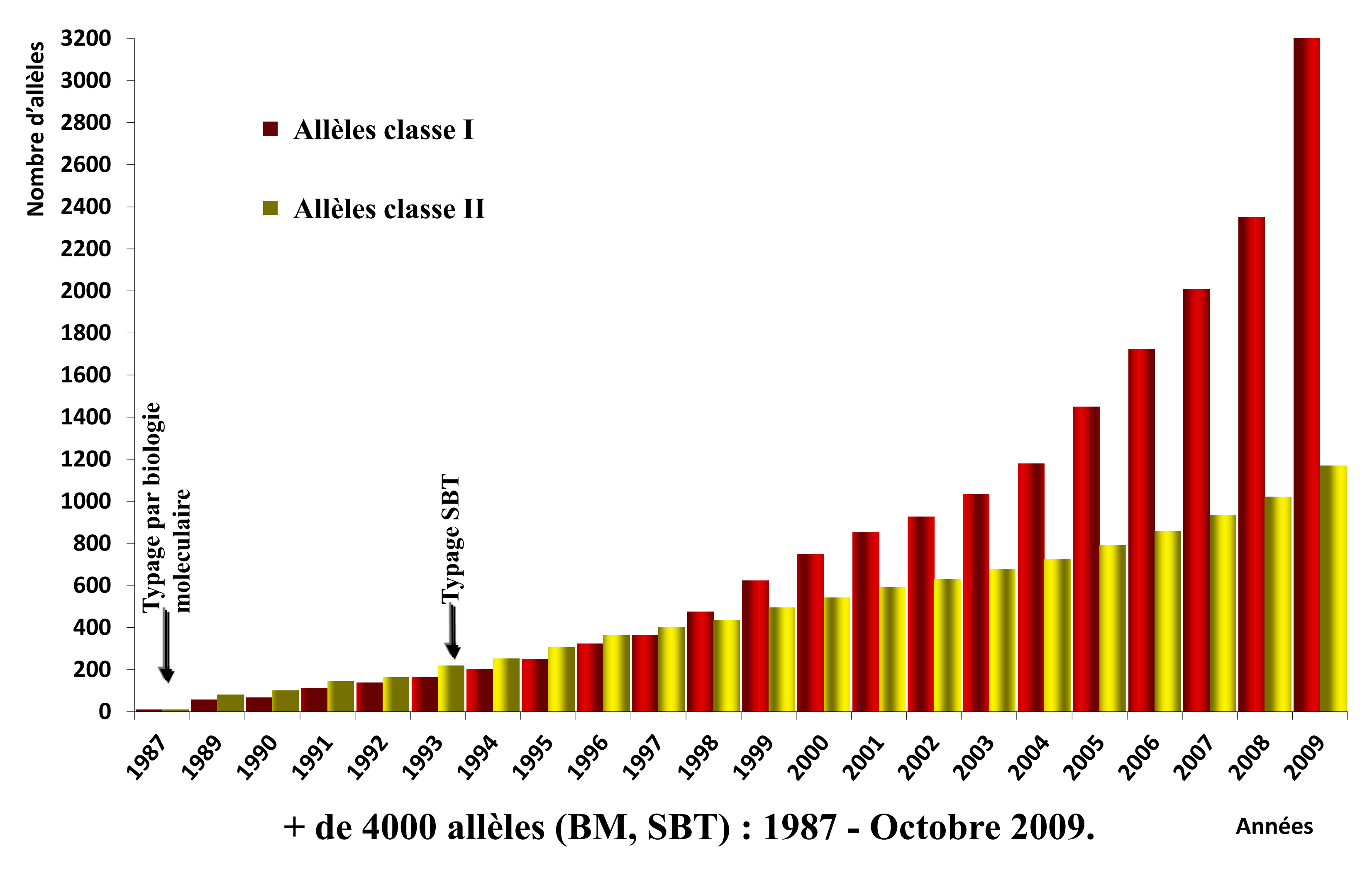
Polymorphisme HLA vu par biologie moléculaire



Polymorphisme HLA vu par biologie moléculaire



Un nombre d'allèles en constante évolution



Chaque individu héritant à chaque locus un gène paternel et un gène maternel:
➔Nombre de combinaisons possibles d'allèles de classe I et II dépasse 10^{19} .

Les fréquences des allèles HLA varient selon les populations

Ex : Fréquences géniques de différents allèles DRB1 dans des populations caucasiennes, africaines et asiatiques

Allèles	Populations caucasienne								Autres	
	FRA	DAN	GER	ITA	ROU	SPA	US	CAN	SEN	JAP
DRB1*0101	9,3	13,0	6,7	6,5	7,6	6,6	7,3	5,6	0,6	4,9
DRB1*0301	10,9	10,2	9,4	10,5	11,4	6,7	9,5	12,3	10,2	0,4
DRB1*0401	5,6	17,6	8,1	2,3	4,2	5,6	6,7	9,5	-	1,8
DRB1*0701	14,0	14,8	12,3	12,5	8,3	18,9	14,4	9,4	7,8	0,6
DRB1*1101	9,2	0,9	9,2	12,4	7,3	1,0	4,4	2,6	9,3	2,0
DRB1*1301	6,0	8,3	4,5	4,8	4,4	4,5	5,1	4,7	4,7	0,7
DRB1*1501	8,0	17,6	7,8	5,6	6,2	9,4	10,3	10,4	-	6,8
DRB1*1304	-	-	-	0,2	-	-	-	-	25,3	-
DRB1*0405	1,6	-	0,6	-	0,7	2,1	0,7	-	0,6	12,3

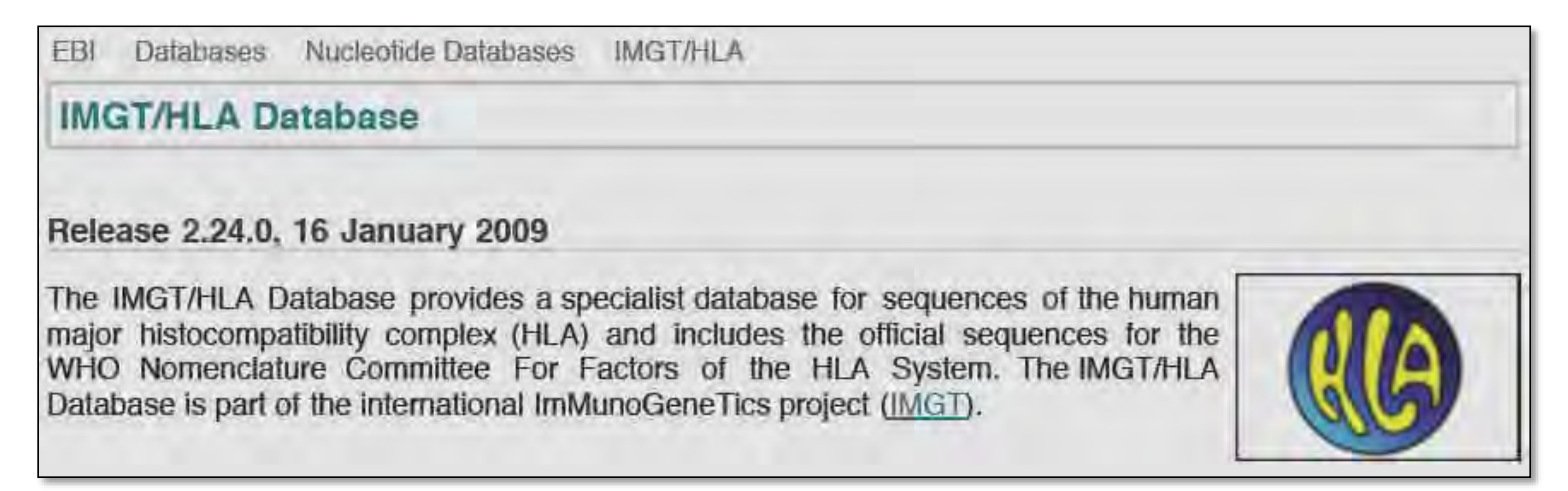
FRA: France, **DAN:** Danemark, **GER:** Allemagne, **ITA:** Italie, **ROU:** Roumanie, **SPA:** Espagne, **US:** Etats-Unis, **CAN:** Canada, **SEN:** Sénégal, **JAP:** Japon.

Nomenclature HLA 2010

Devant ce polymorphisme HLA un comité international de nomenclature *« WHO Nomenclature Committee for Factors of the HLA System »* définit régulièrement les règles d'écriture et intègre les nouveaux variants au fur et à mesure de leur découverte selon des critères bien définis.

Ces règles prennent en compte :

- **les régions géniques,**
- **Les allèles ou gènes,**
- **Les produits ou spécificités HLA**



www.ebi.ac.uk/imgtIhla

Nomenclature HLA 2010

Deux nomenclatures parallèles, sérologiques et alléliques sont définies par techniques de typages HLA.

Antigènes		Allèles
Sérologie	**Biologie moléculaire**	**Biologie moléculaire**
A2	A*02	A*02:01
B7	B*07	B*07:05
Cw4	Cw*04	C*04:01
DR4	DRB1*04	DRB1*04:08
DQ5	DQB1*05	DQB1*05:03
	DPB1*04	DPB1*04:02

Sérologie

Lettre précisant le locus (ex : HLA A pour le locus A) suivi par son numéro spécifique (ex : HLA A2).
Pour certains antigènes : Ex : A23 et A24 → subdivisions de la spécificité large (broad) HLA A9 : on écrit: HLA A23(9)
HLA A24(9)

Nomenclature HLA 2010

Biologie moléculaire

1. **La ponctuation « deux points » est ajoutée entre les 2 premiers chiffres désignant l'antigène et les 3e et 4e chiffres désignant l'allèle. Utilisée aussi pour distinguer les subdivisions allèliques**

A*260101 ➔ A*26:01:01
B*0808N ➔ B*08:08N

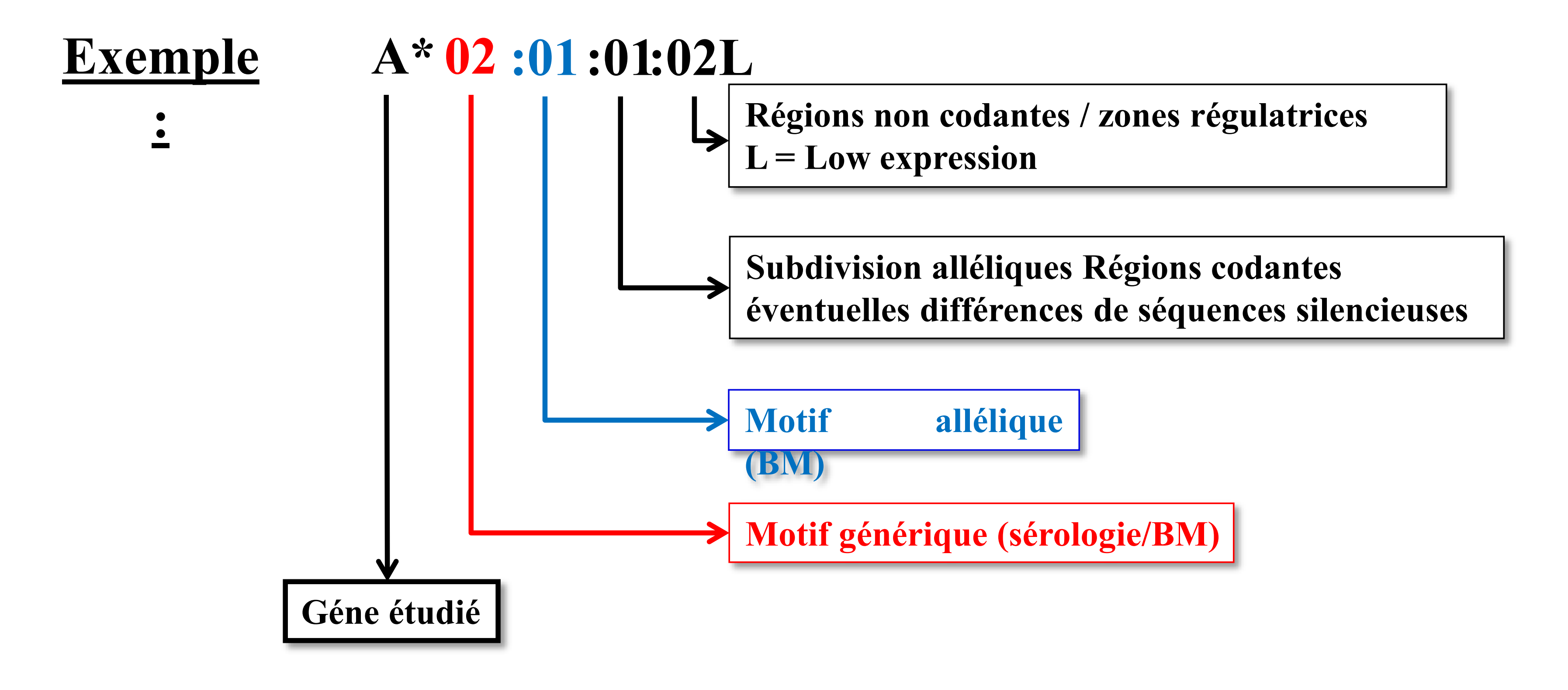
2. **Un chiffre supplémentaire pour la désignation des allèles est ajouté pour les familles contenant plus de 99 allèles.**

A*0201……………………………… A*02:99
A*9201 ➔ A*02:101
A*9202 ➔ A*02:102

3. **La lettre « w » du locus Cw est éliminée pour les résultats de génotypage mais demeure pour les résultats de sérologie.**

Cw*0103 ➔ C*01:03
Anticorps anti-Cw4 demeure anticorps anti-Cw4

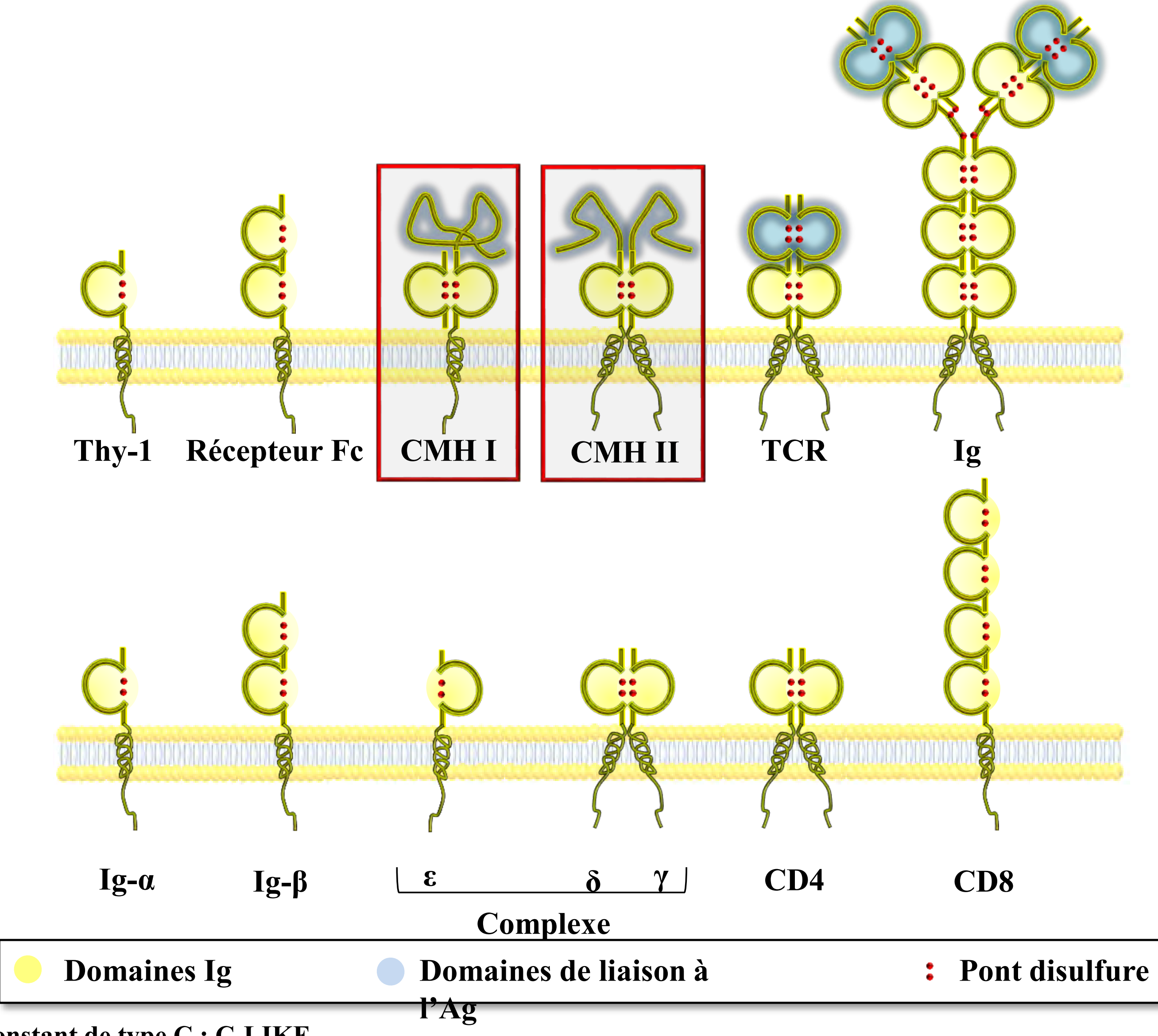
Nomenclature Biologie Moléculaire



Typage par Biologie Moléculaire:

- Définition générique: Basse résolution « 2 digits » : TO, CSH apparentées
- Définition allèlique: Haute résolution « 4 digits » : sélection de donneurs de CSH non apparentés

Les molécules HLA I et II appartiennent à la SFIg

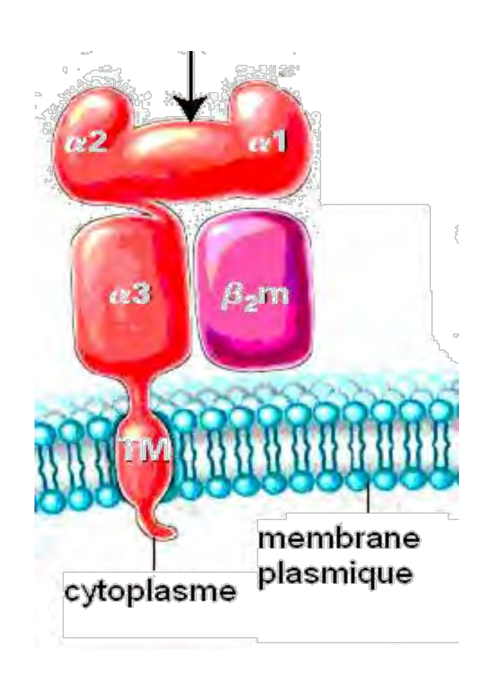


- 1 domaine constant de type C : C-LIKE
- La chaîne β2m : domaine extracellulaire C-LIKE.

MOLECULES HLA

A- Molécules HLA de Classe I:

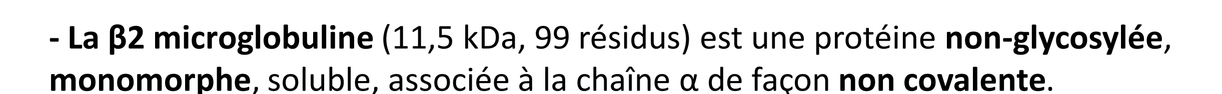
Structure



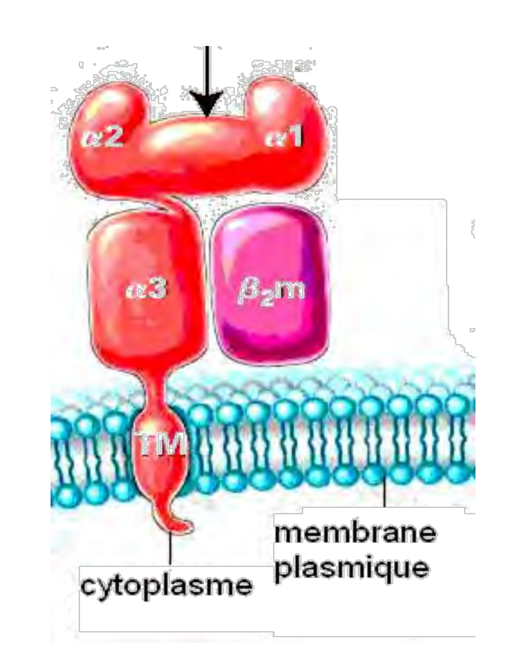
- Les molécules CMH I sont des glycoprotéines hétérodimériques composées de 2 chaînes :
  - une chaîne polypeptidique lourde (chaîne α)
  - une chaîne polypeptidique légère (β2 microglobuline = β2m)

- La chaîne α : protéine **glycosylée**, **polymorphe**, de 44 kDa (environ 345 résidus) possèdant trois régions:
  - une extracellulaire,
  - une transmembranaire (une trentaine de résidus)
  - une cytoplasmique (une trentaine de résidus).

La région extracellulaire est formé de trois sous domaines: α1, α2 et α3. Chacun comporte environ 90 acides aminés et codé par un exon distinct.


- La β2 microglobuline (11,5 kDa, 99 résidus) est une protéine **non-glycosylée**, **monomorphe**, soluble, associée à la chaîne α de façon **non covalente**.

Codée par **un gène localisé sur le chromosome 15**.
Sécrétée en excès par rapport à la chaîne α.
Existe sous forme libre dans le sérum
Nécessaire à l'expression des molécules HLA de classe I



La région extra cellulaire hydrophile organisée en 3 domaines α1, α2 et α3 d'environ 90 aa chacun.

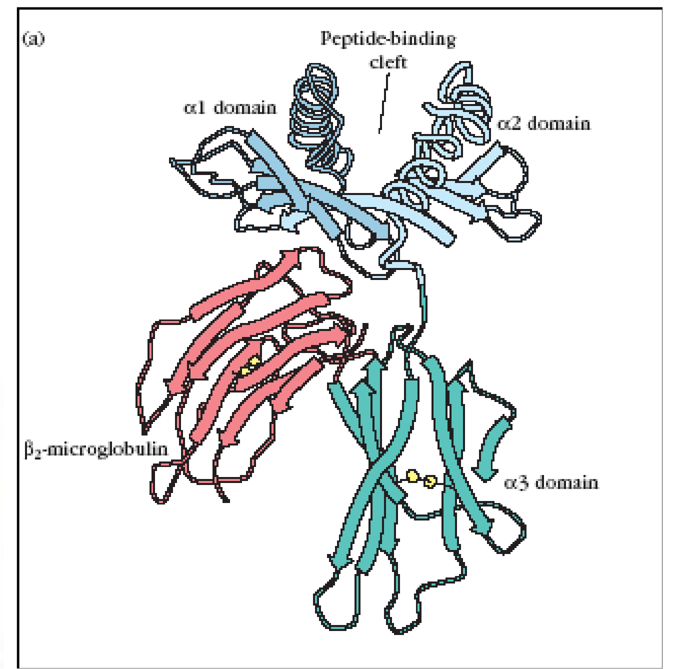
Les domaines α1 et α2 forment entre eux une **cavité de liaison (niche)** de peptides antigéniques.

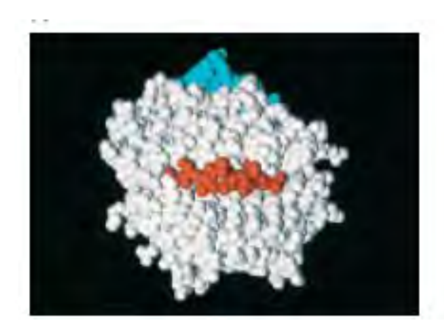
Le **polymorphisme** est essentiellement localisé dans les régions hypervariables des domaines extra cellulaires **α1 et α2**

Le peptide immunogène de 8 à 9 acides aminés est retenu par des résidus d'ancrage et présenté par les molécules HLA I au TCRαβ des lymphocytes T CD8+.

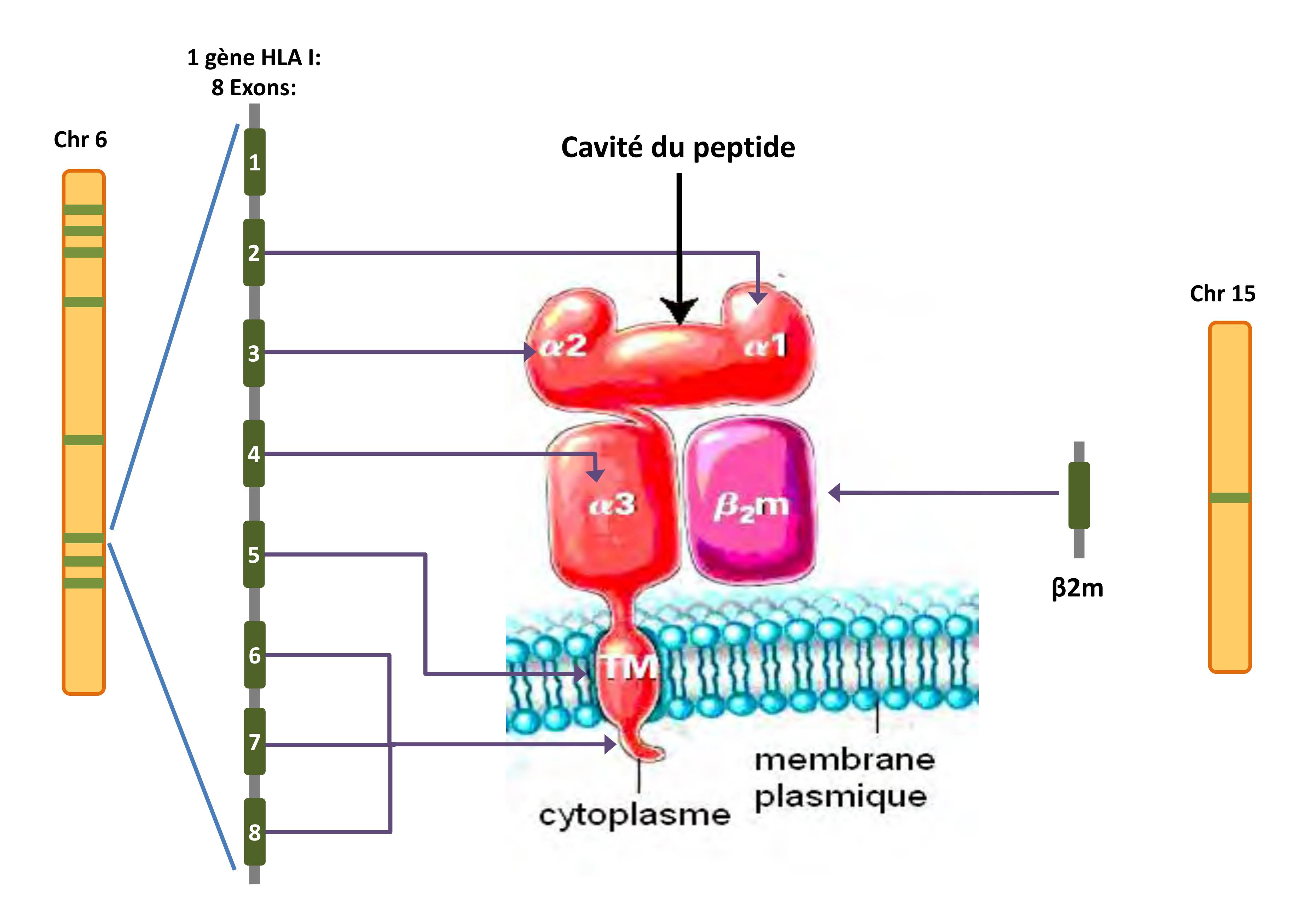
Les autres résidus interagissent avec le TCR.

Le récepteur T reconnaît le peptide niché dans la cavité α1 - α2 et une partie de la molécule HLA





NB : La molécule CD8 se lie au domaine α3


1 gène HLA I:
8 Exons:
Chr 6
1
2
3
4
5
6
7
8
Cavité du peptide
α2
α1
α3
β2m
TM
membrane
plasmique
cytoplasme
Chr 15
β2m

Molécules HLA de classe I classiques

Expression :

Toutes les cellules nucléés de l'organisme

Structure :

1 chaîne lourde α glycosylée (44kD) associée d'une façon non covalente à la β2 microglobuline.

La chaine α

Glycoprotéine transmembranaire polymorphe (α1, α2):

➢3 … 3.

➢1

➢1

… fures : α2, α3, β2m.

β2 micro…

➢C…

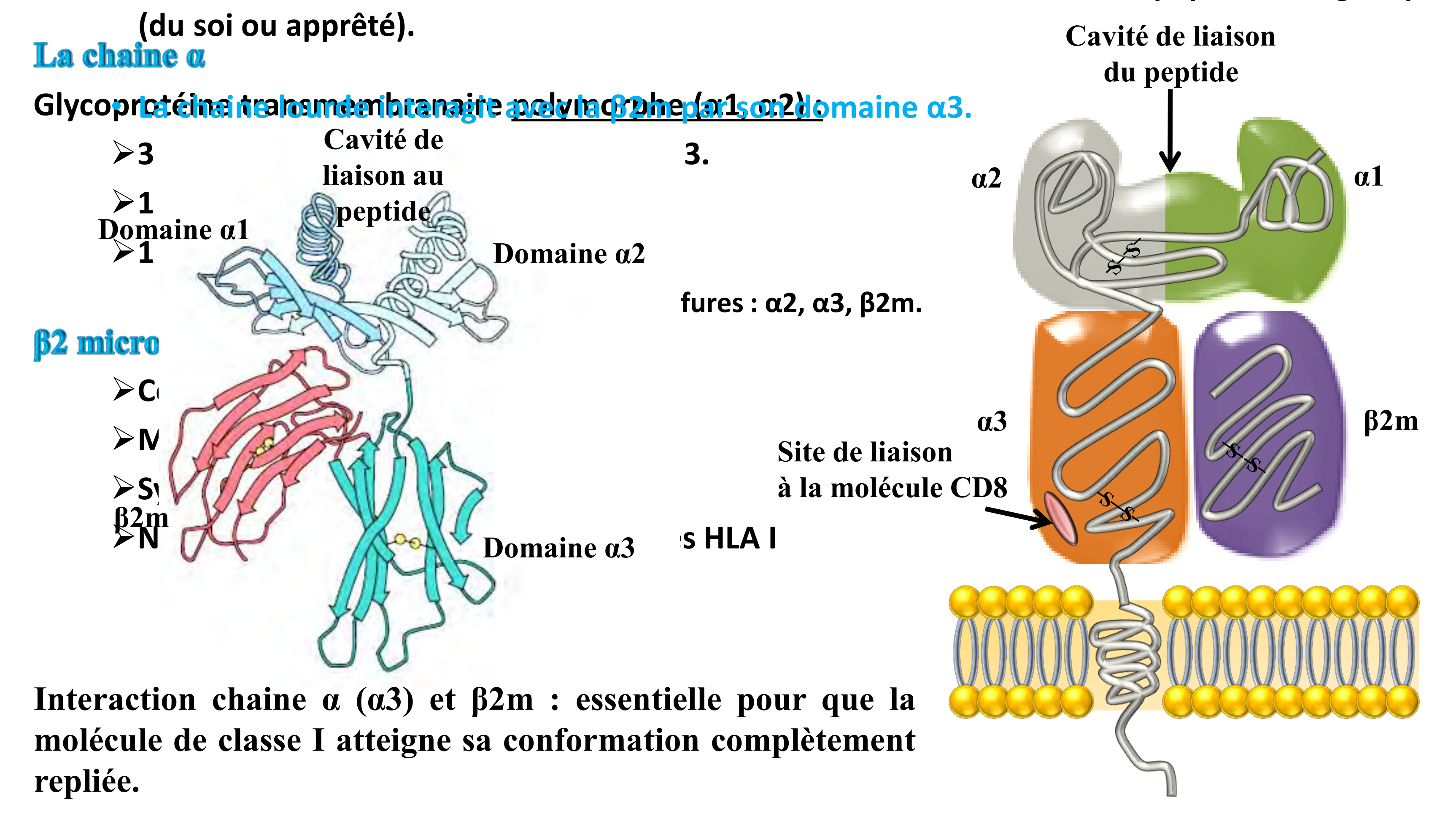
➢M…

➢S…

➢N … s HLA I

Structure tridimensionnelle des molécules HLA I déduite de la cristallisation de la portion extracellulaire de la molécule A2:

- **2 domaines distaux α1 et α2 :** formant une cavité de liaison du peptide antigénique (du soi ou apprêté).
- **La chaine lourde interagit avec la β2m par son domaine α3.**

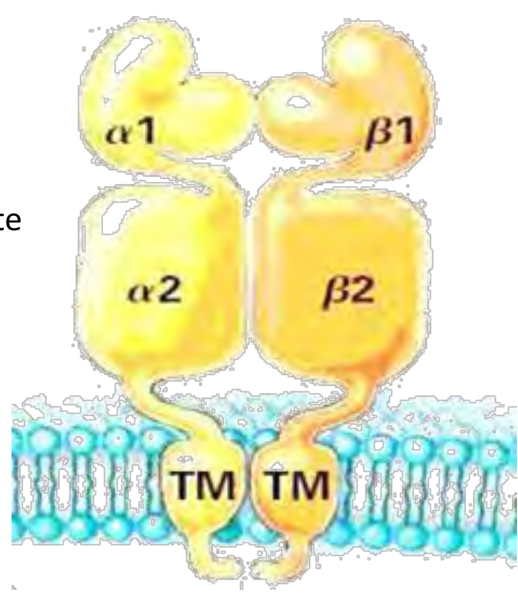


Interaction chaine α (α3) et β2m : essentielle pour que la molécule de classe I atteigne sa conformation complètement repliée.

MOLECULES HLA

A- Molécules HLA de Classe II:

Structure



Les molécules HLA II ont comme les molécules HLA II une **structure globulaire** compacte appartenant à la superfamille des immunoglobulines.

Ce sont des **Glycoprotéines** transmembranaires composées :
- d'une **chaîne α** de 35 KDa
- d'une **chaîne β** de 26-29 KDa

Associées de façon non covalente à la membrane cellulaire.

Chaque chaîne est constituée de :

1- Deux domaines extracellulaires N-terminaux d'environ 90 aa chacun:
α1 et α2 pour la chaîne α,
β1 et β2 pour la chaîne β

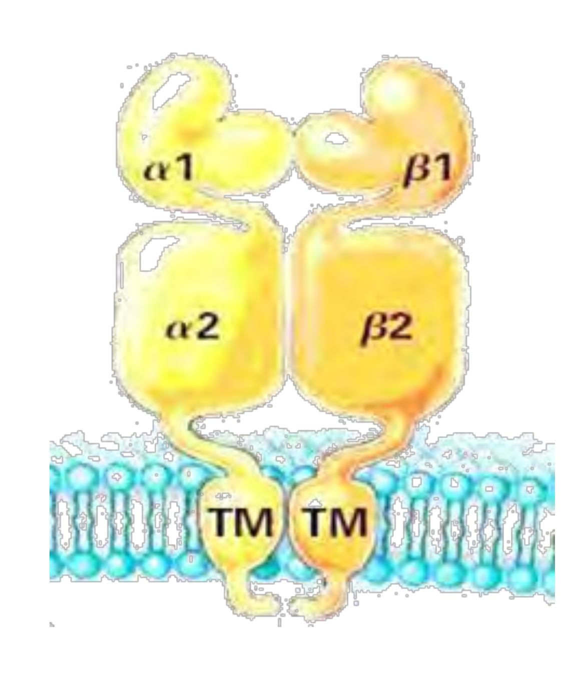
2- Une région trans-membranaire hydrophobe,
3- Une région intra-cytoplasmique C-terminale hydrophile.

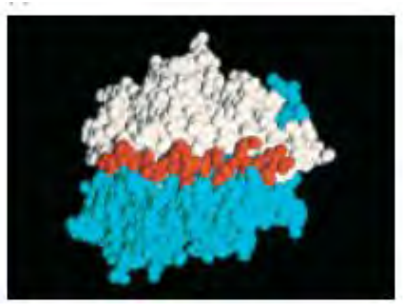
La molécule HLA de classe II présente une symétrie des domaines α1 et β1 d'une part et α2 et β2 d'autre part.

Les domaines α1 et β1 forment entre eux la cavité peptidique.

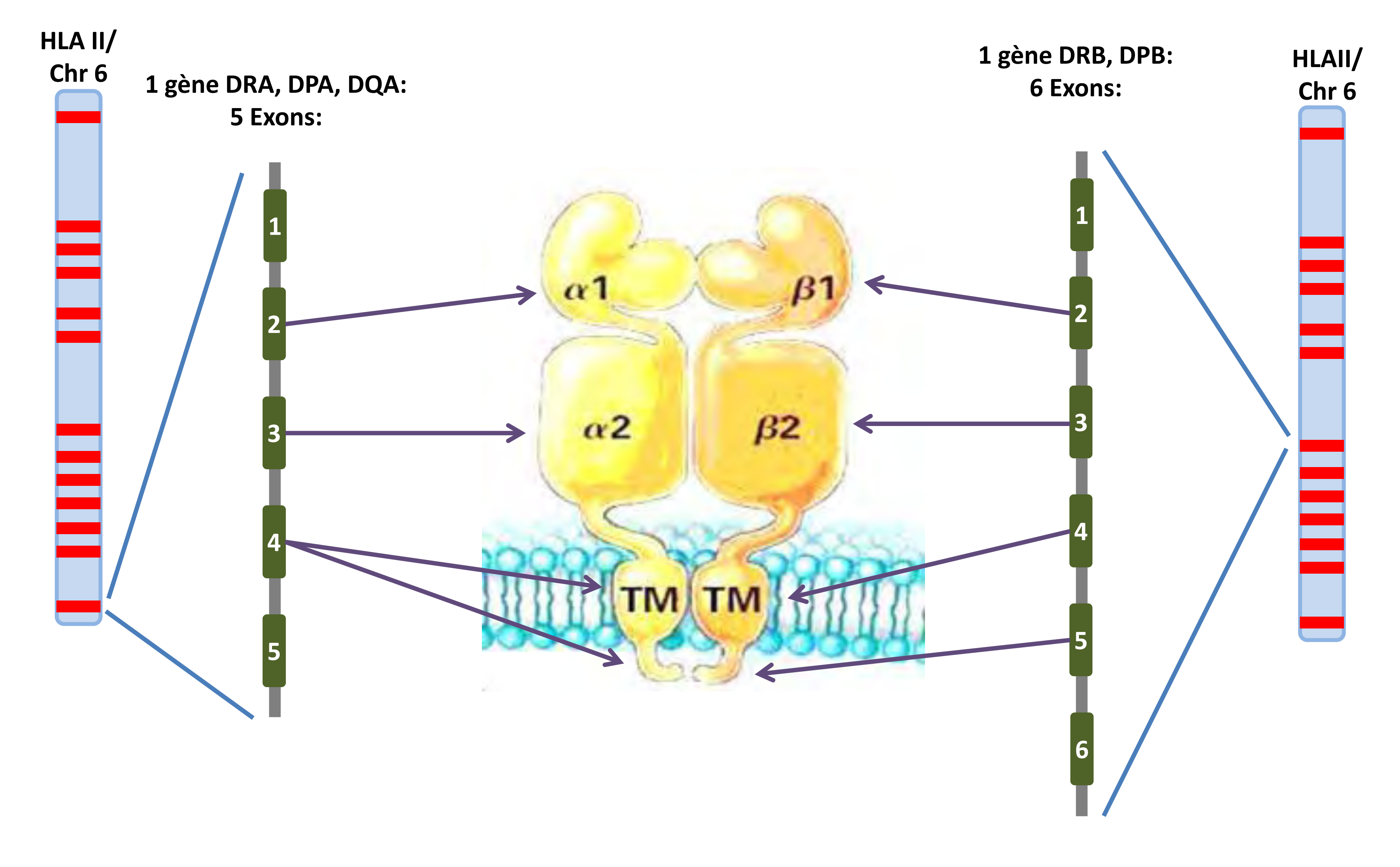
le **polymorphisme** est essentiellement localisé dans les régions hypervariables des domaines extra cellulaires **β1 et/ou α1***

Le peptide immunogène d'environ 12 à 35 aa est retenu par des résidus d'ancrage est présenté par les molécules HLA de classe II au TCRαβ des lymphocytes T CD4+.





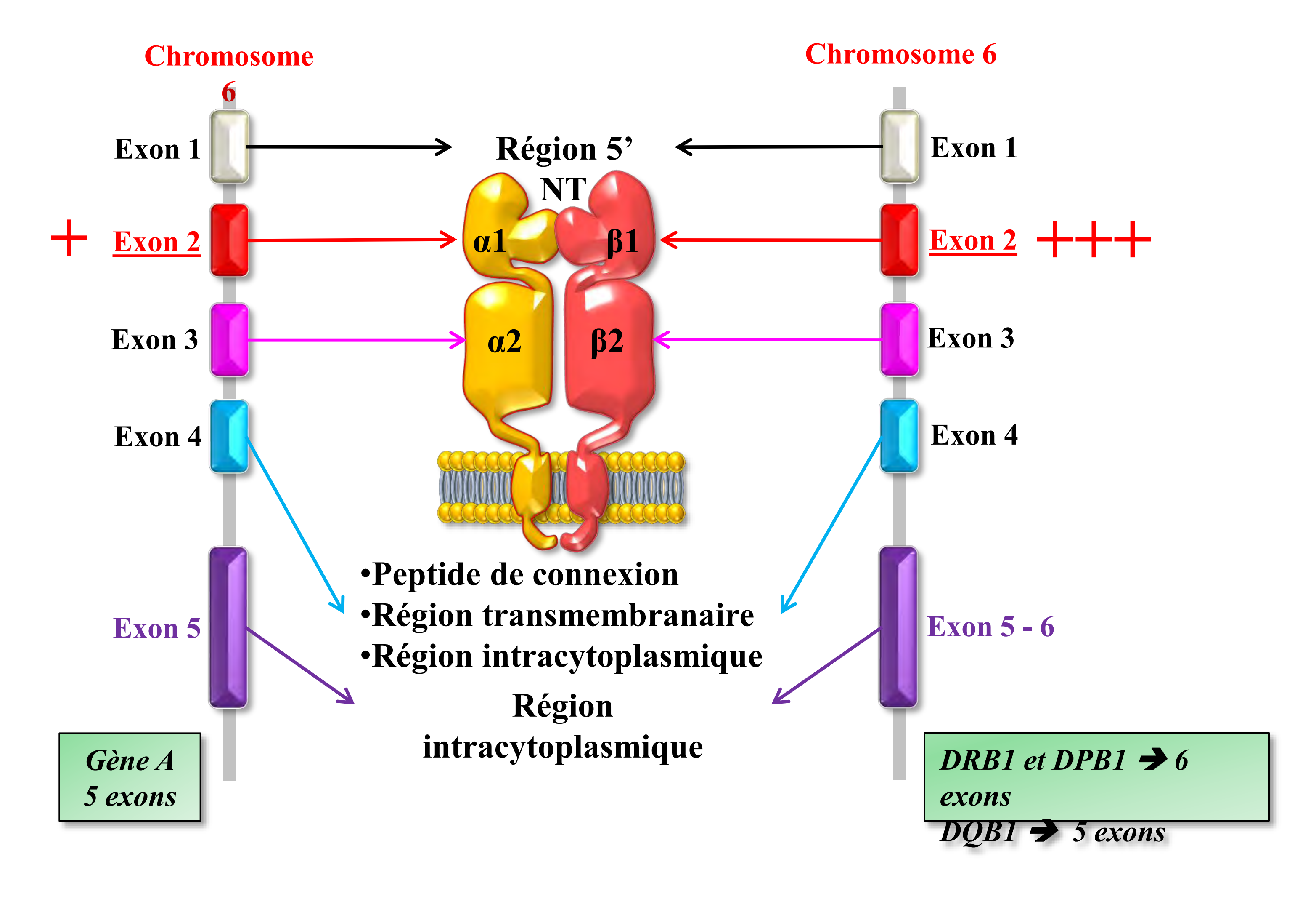
* La chaine α de la molécule DR est monomorphe.


HLA II/
Chr 6
1 gène DRA, DPA, DQA:
5 Exons:
1
2
3
4
5
α1
α2
β1
β2
TM
TM
1 gène DRB, DPB:
6 Exons:
1
2
3
4
5
6
HLAII/
Chr 6

Molécules HLA de classe II

Produits des gènes DR, DQ et DP

Localisation et degré du polymorphisme



Cavité peptidique des molécules HLA I et II

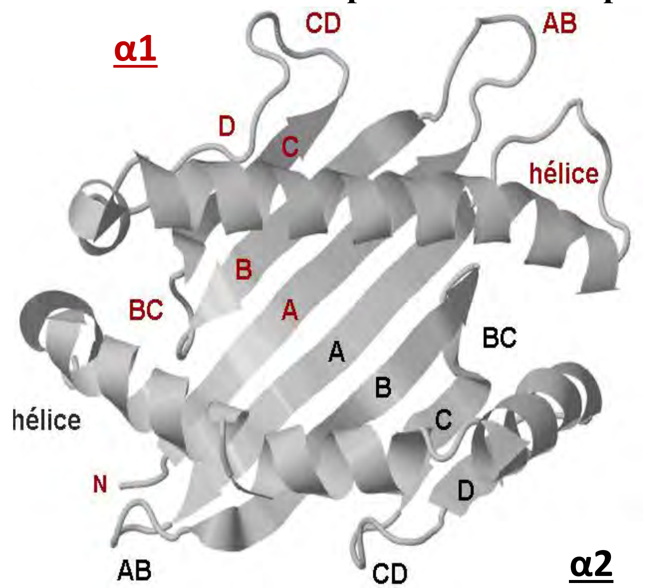
HLA I

➔Chacun des domaines α1 et α2 :

- Feuillet de 4 brins bêta antiparallèles (A, B, C et D)
- Une longue hélice alpha.

➔ Association α1 et α2 →forme d'un sillon ou cavité peptidique composée de:

- D'un plancher de 8 brins anti-parallèles bêta,
- De cotés formés par des hélices alpha

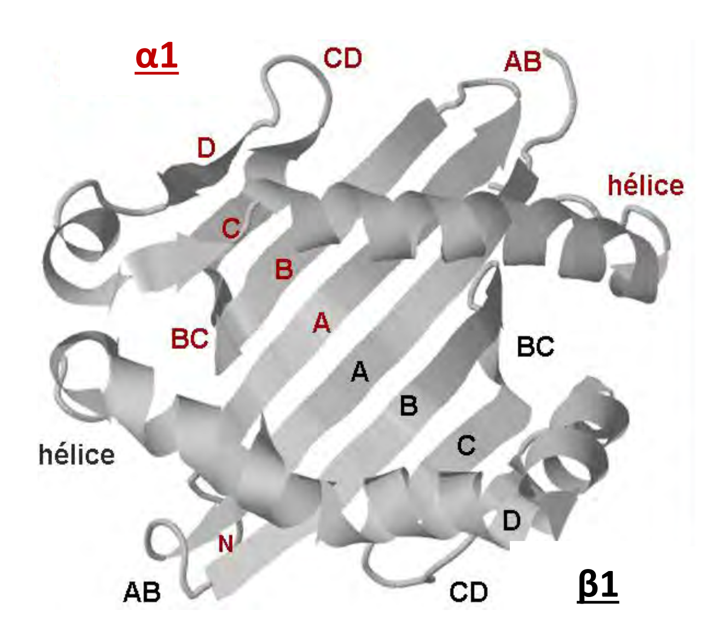


HLA II

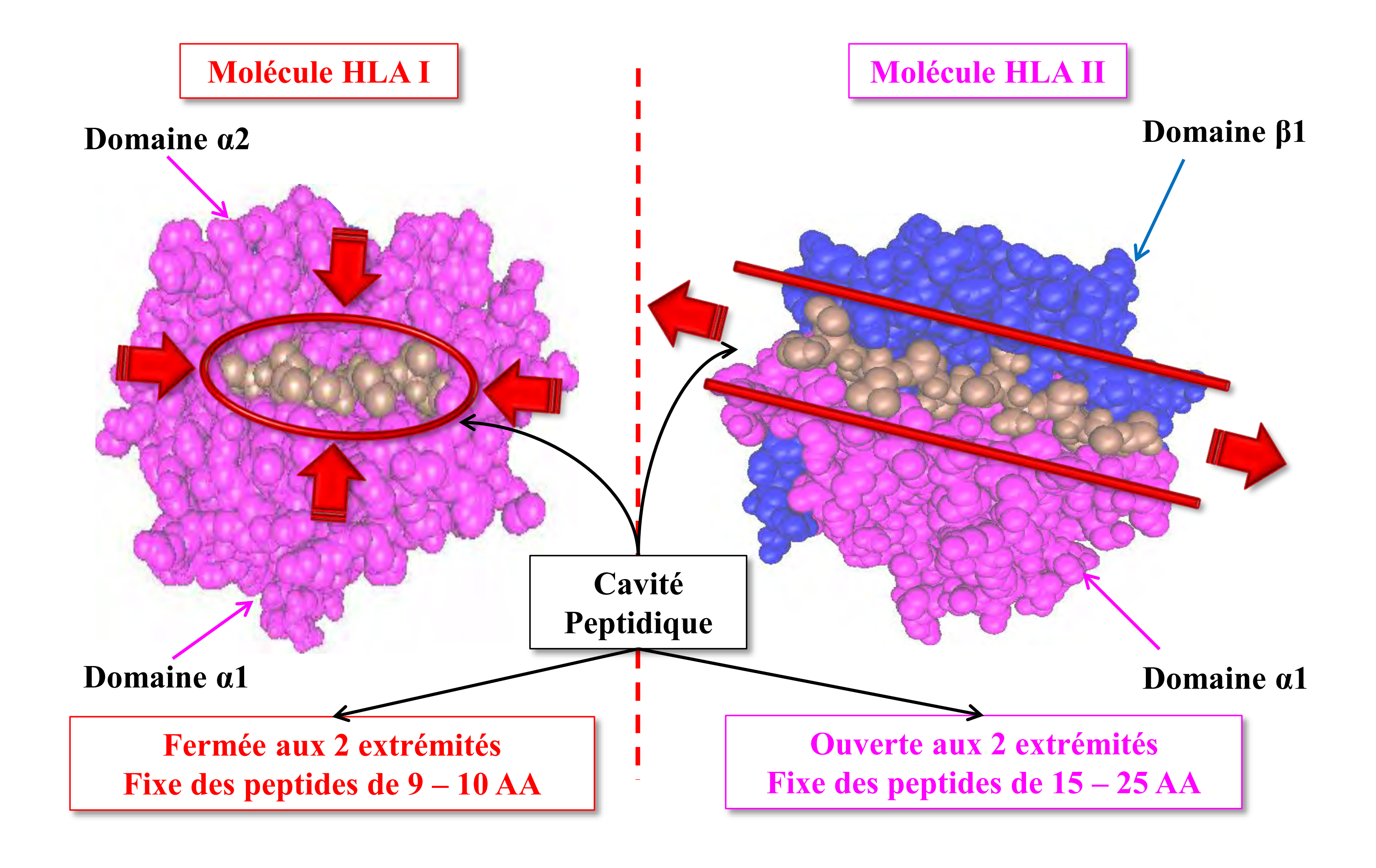
➔Les domaines α1 et β1 forment entre eux la cavité peptidique.

➔Cette cavité est délimitée par :

- Deux hélices α correspondants aux extrémités C-terminales des domaines α1 et β1.
- Le fond est constitué des feuillets β N-terminaux de chaque domaine. 0



La liaison des peptides est très différente pour les 2 molécules



IV- DISTRIBUTION CELLULAIRE

Distribution cellulaire des molécules HLA

HLA classe I

Les molécules HLA A, B et C présentent une distribution **quasi-ubiquitaire.**

Elles sont exprimées sur la **majorité des cellules nucléées** de l'organisme.

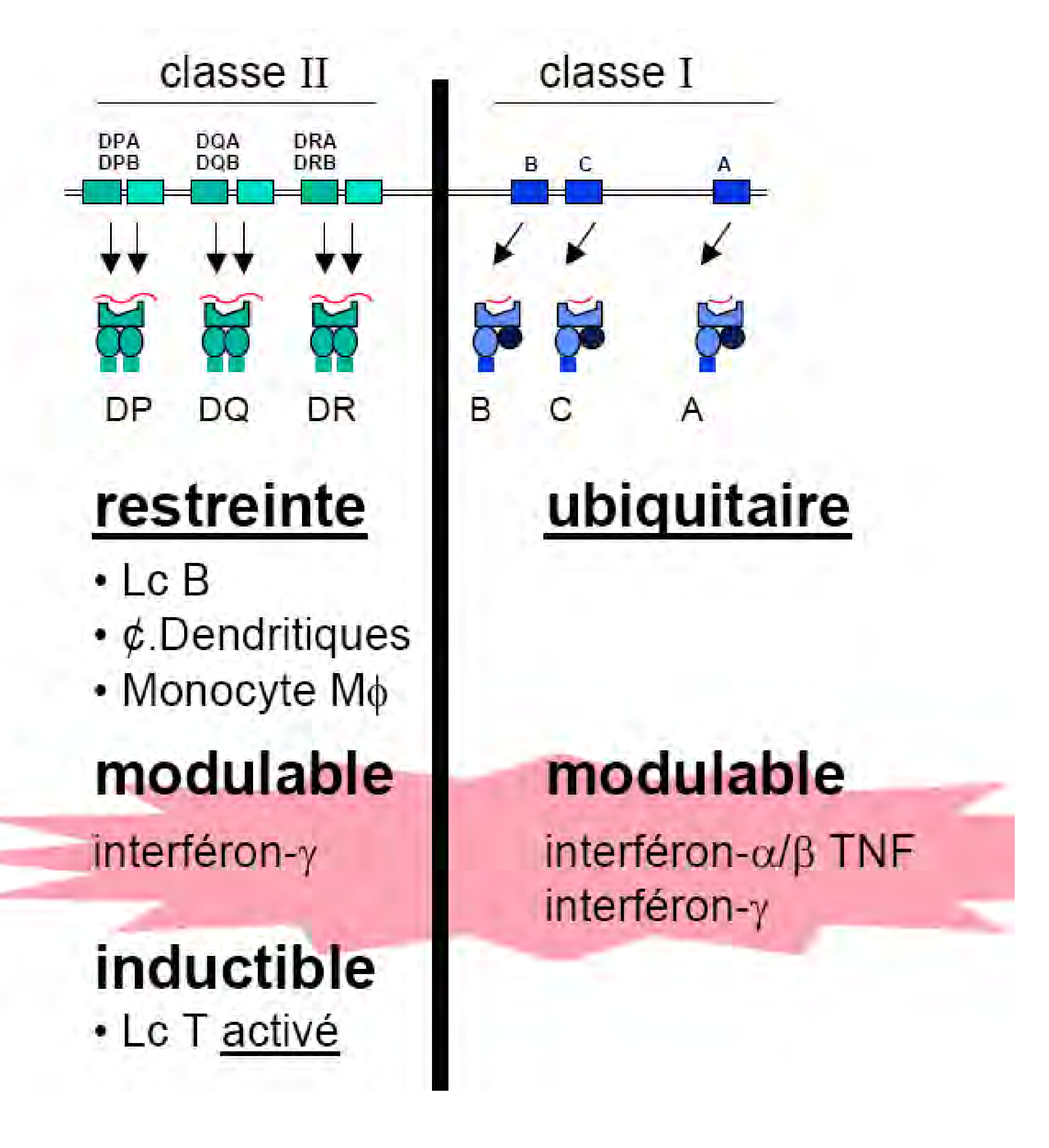
Nombre variable en fonction du type cellulaire et de son état de différenciation
rate > foie > poumon > intestins > cœur > thymocytes
- Tissus dépourvus
os, cartilage, cerveau, trophoblaste, tubules rénaux, spermatozoïdes
- Absent dans certaines maladies ; maladies des lymphocytes dénudés ; cellules en culture DAUDI
- Situé # selon les cellules : plus sur lymphocytes que sur plaquettes

HLA classe II

Les molécules HLA de classe II ont une expression restreinte.

Exprimées principalement à la surface des **cellules présentatrices de l'antigène (CPA)**: cellules dendritiques (les cellules de Langerhans de la peau, cellules dendritiques des tissus, cellules interdigitées des ganglions…), les lymphocytes B et les macrophages.

Elles sont également présentes à la surface des **lymphocytes T activés** et des précurseurs érythrocytaires, granulocytaires et monocytaires.


classe II
classe I
DPA
DPB
DQA
DQB
DRA
DRB
B
C
A
DP
DQ
DR
B
C
A
restreinte
• Lc B
• ¢.Dendritiques
• Monocyte Mϕ
ubiquitaire
modulable
interféron-γ
modulable
interféron-α/β TNF
interféron-γ
inductible
• Lc T activé

Fonction des molécules HLA : restriction de la réponse immune

Rôle crucial des molécules HLA I et II dans l'initiation de la réponse immunitaire adaptative par leur capacité de présentation de peptides immunogènes aux Lymphocytes T à TCR αβ spécifiques de ces Ag.

La source des peptides, leur trajet intracellulaire avant l'association aux molécules HLA, ainsi que le type de Lymphocytes T auxquels ils sont présentés varient selon la classe de molécules HLA considérées

Source des peptides

- **Protéines endogènes/exogènes ➔ HLA I**
- **Protéines exogènes ➔ HLA II**

Voies intracellulaires

- **Voie du réticulum endoplasmique ➔ HLA I**
- **Voie phagolysosomiale ➔ HLA II**

Lymphocytes reconnaissant le complexe HLA- peptide

- **T $CD8^+$ ➔ HLA I – peptide**
- **T$CD4^+$ ➔ HLA II – peptide**

Présentation de peptides endogènes par les molécules HLA I

Présentent aux Lymphocytes T CD8+ des peptides immunogènes dérivés par protéolyse de protéines d'origine endogène (protéines du soi, protéines tumorales ou virales).

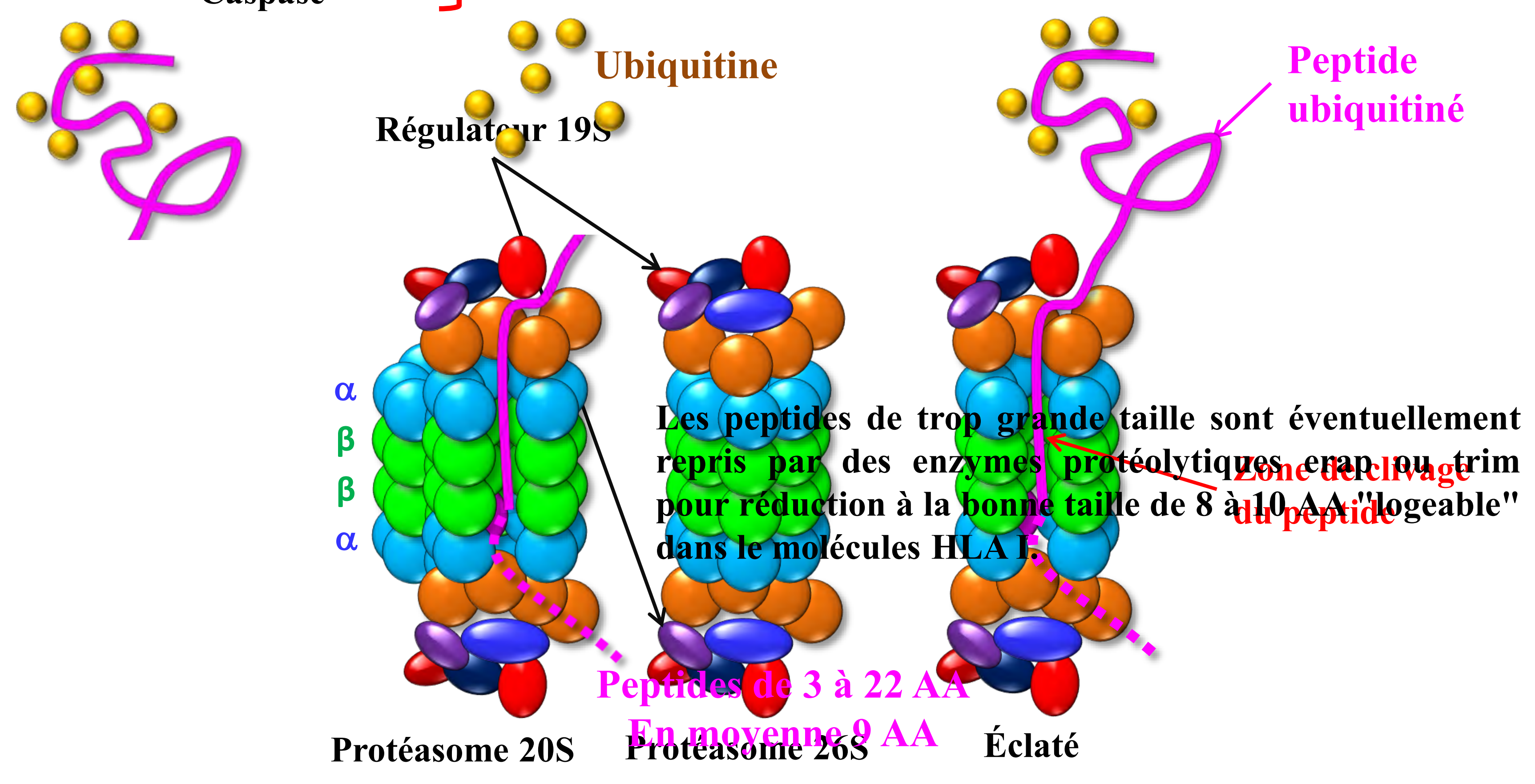
Protéasome

- **Plusieurs Famille des N-terminal hydrolases**
- **activités protéasiques :**
  - –Trypsine
  - –Chemotrypsine
  - –Caspase

  excellent générateur de peptides de petite taille (environ 10AA) à partir de quasiment n'importe quelle protéine.

Génération des peptides antigéniques endogènes

Les protéines prises en charge par des molécules chaperonnes (ubiquitine) sont dirigées vers un complexe multi-catalytique ou protéasome où elles sont dégradées. Cet ensemble composé d'une vingtaine d'éléments dégrade les protéines en peptides de 9 à 13 AA.

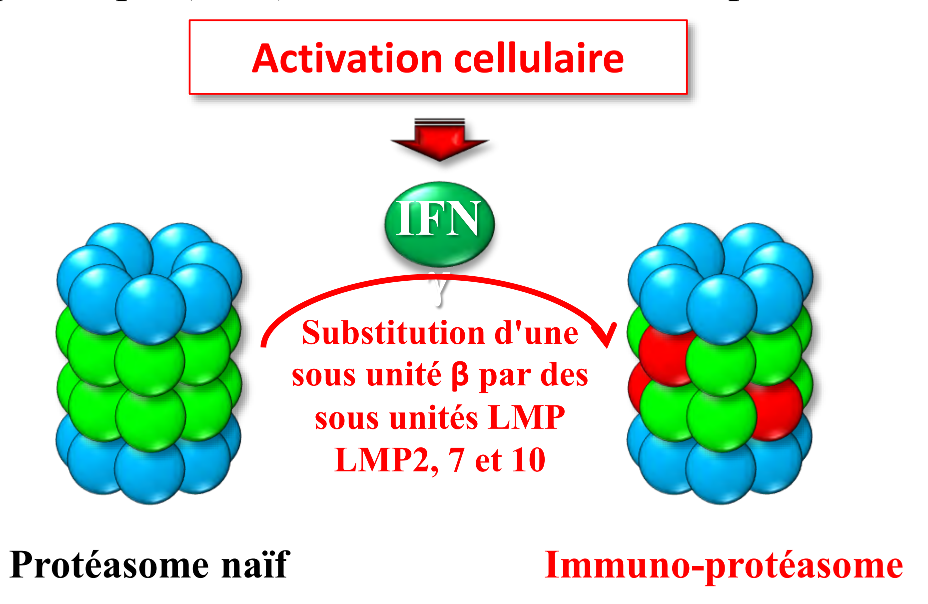


Les peptides de trop grande taille sont éventuellement repris par des enzymes protéolytiques erap ou trim pour réduction à la bonne taille de 8 à 10 AA "logeable" dans le molécules HLA I.

Présentation de peptides endogènes par les molécules HLA I

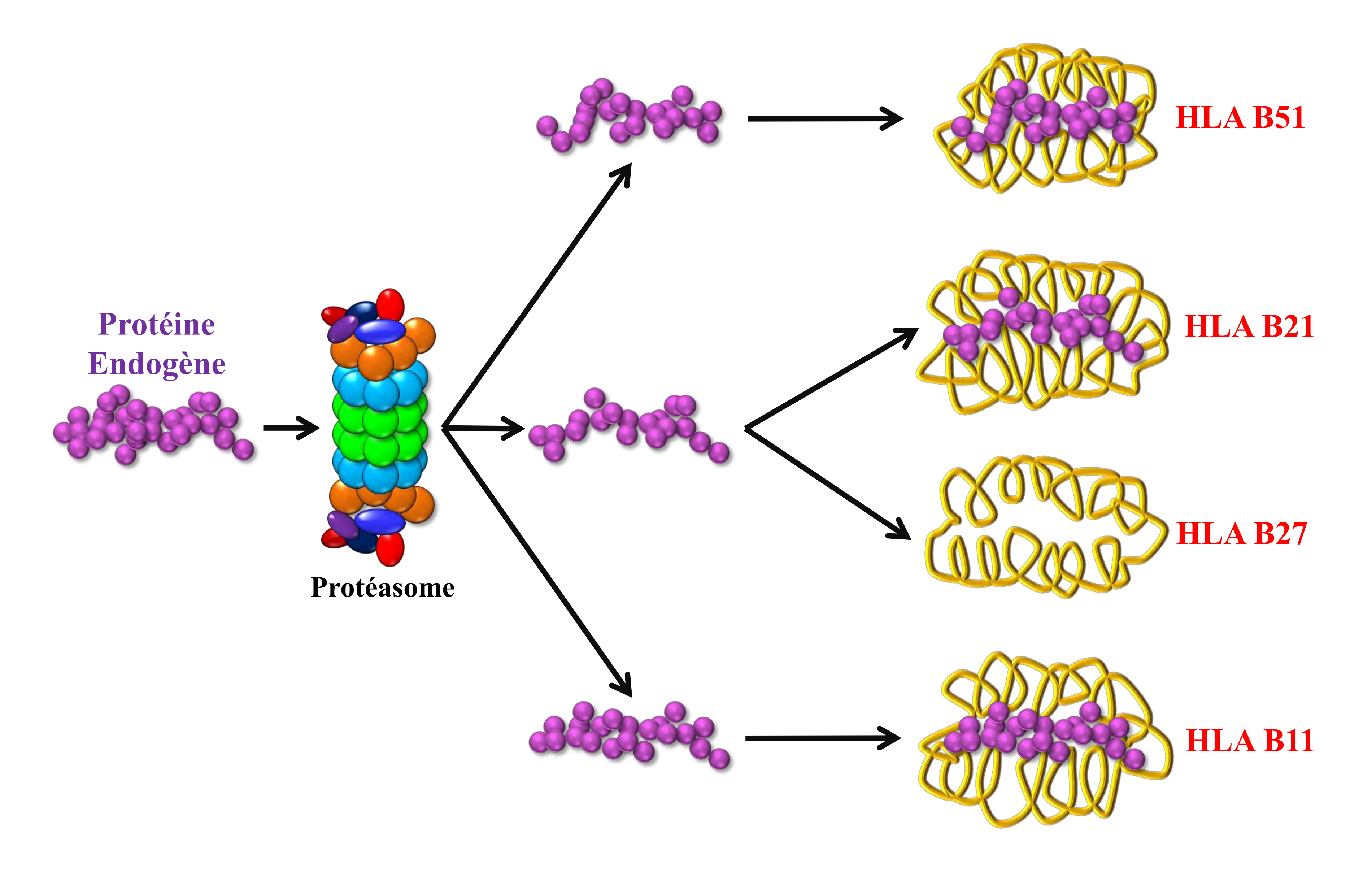
Action de l'IFNγ sur le protéasome

Au cours de l'activation cellulaire, l'IFNγ induit l'expression des protéines LMP2, 7 et 10 (codées par des gènes situés dans la région HLA II) qui sont incorporées au protéasome en remplaçant certaines de ses sous unités. Ce protéasome va, par la suite, cliver de façon préférentielle les protéines après des résidus hydrophobes ou basiques, générant des peptides qui après transport dans le réticulum endoplasmique (RED) auront une forte affinité pour les molécules HLA I.



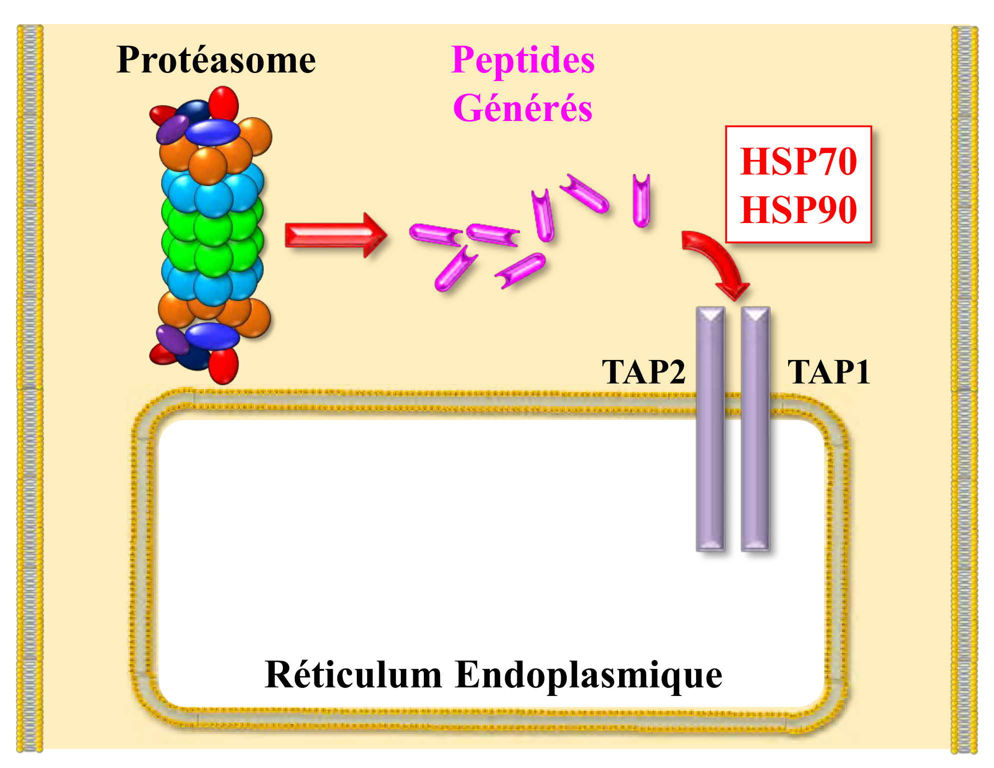
L'Immuno-protéasome a une activité de génération de peptides exacerbée par rapport au protéasome naïf (non immun).

Protéasome


Protéine
Endogène
Protéasome
HLA B51
HLA B21
HLA B27
HLA B11

Présentation de peptides endogènes par les molécules HLA I

Les peptides générés par le protéasome sont pris en charge par les HSP70 et 90 qui les amènent au contact du système TAP (TAP1, TAP2), molécules chargées du transfert de ces peptides dans le RED.



Trois niveaux de sélection des peptides :

1. **Génération de peptides adéquats :**
   - **Taille de 8 à 9 AA**
   - **Groupement COOH terminal chargé positivement (hydrophobe) sous l'influence de LMP2 et LMP7**
2. **Système de transport**
3. **Contraintes structurales de la cavité de présentation**

Allèle donné ➔ peptide donné

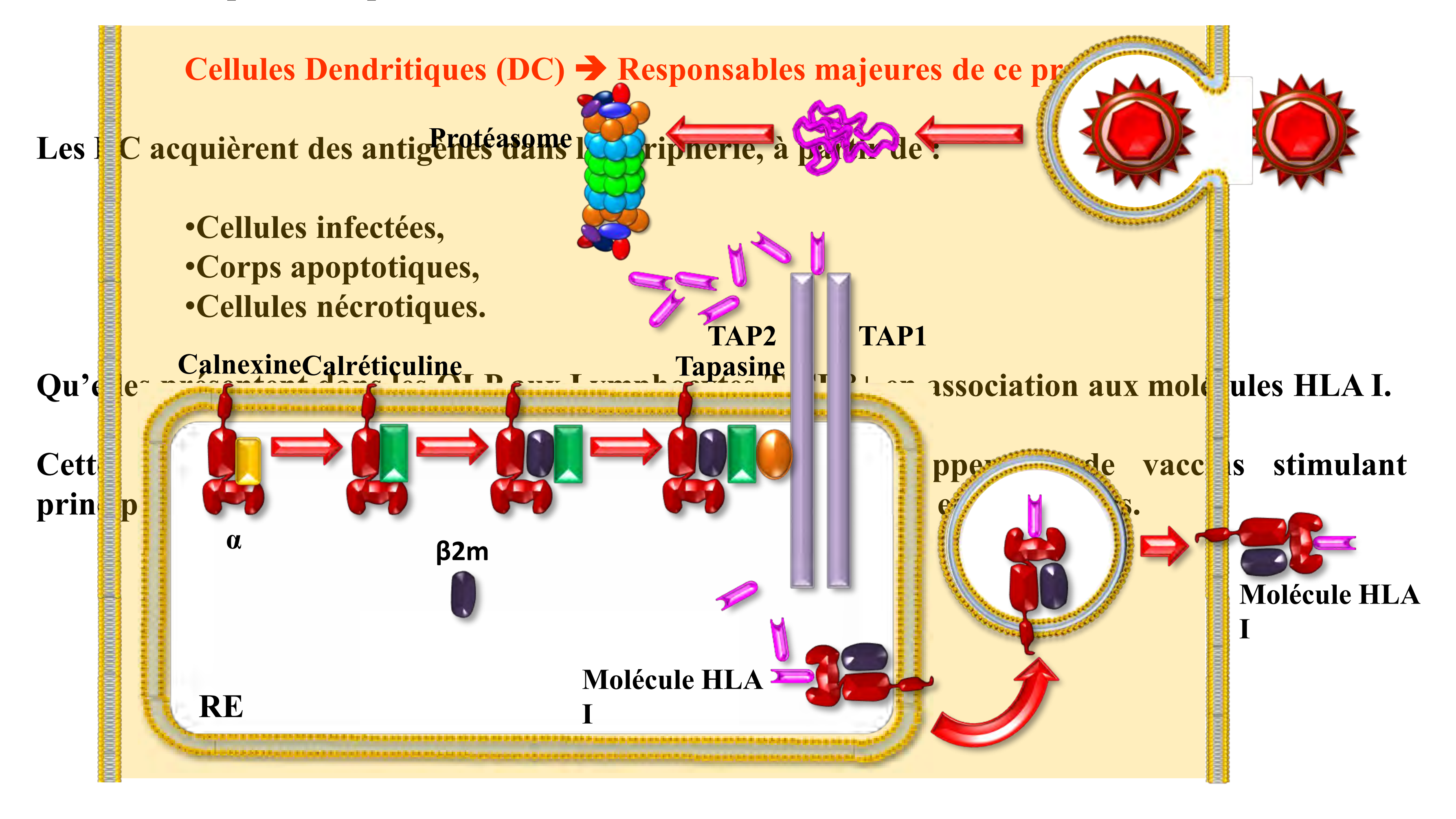


Ce qui limite le nombre de peptides adéquats

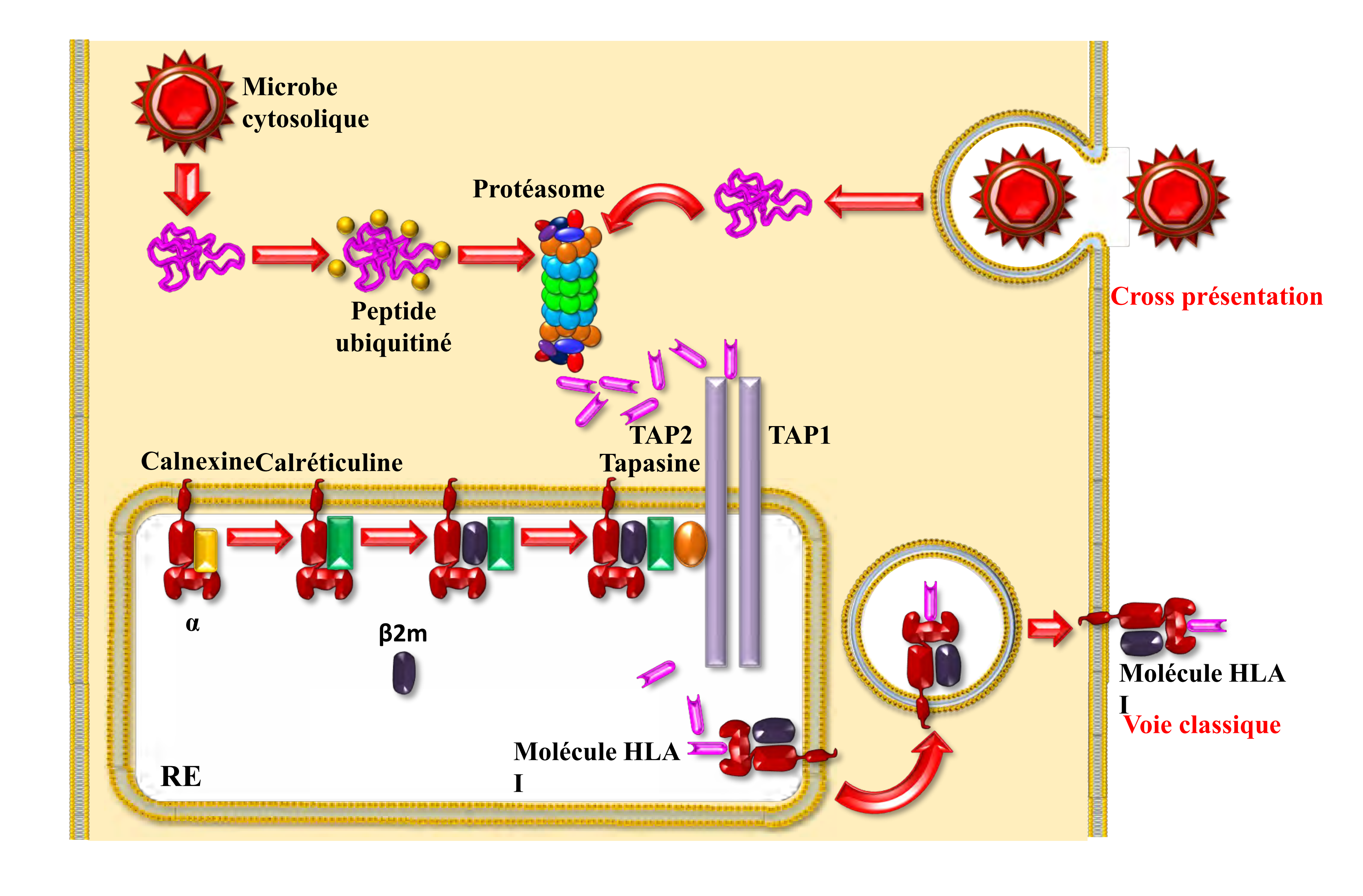
Présentation de peptides endogènes par les molécules HLA I

Cross Présentation (Présentation Croisée)

Processus par lequel des antigènes extracellulaires (présentés, classiquement, par les molécules HLA II) sont présentés par HLA I.



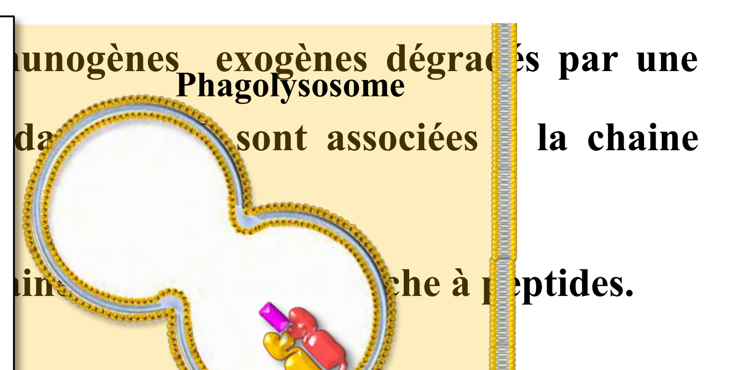
Présentation de peptides par les molécules HLA I



Présentation de peptides exogènes par les molécules HLA II

La chaine li assure la sortie du RE et l'adressage de l'ensemble dans le compartiment endosomal.
La complexe HLA li par fusion avec un lysosome se trouve dans une vésicule dite « phagolysosome ».

Certaines enzymes (cathepsine) dégradent aussi la chaine li dont il ne subsiste que le fragement CLIP (CLass II associated Invariant chain Peptide).



RE

β

αβ

li

CLIP

HLA II + li

RE

Golgi

Membran
e
Cellulaire

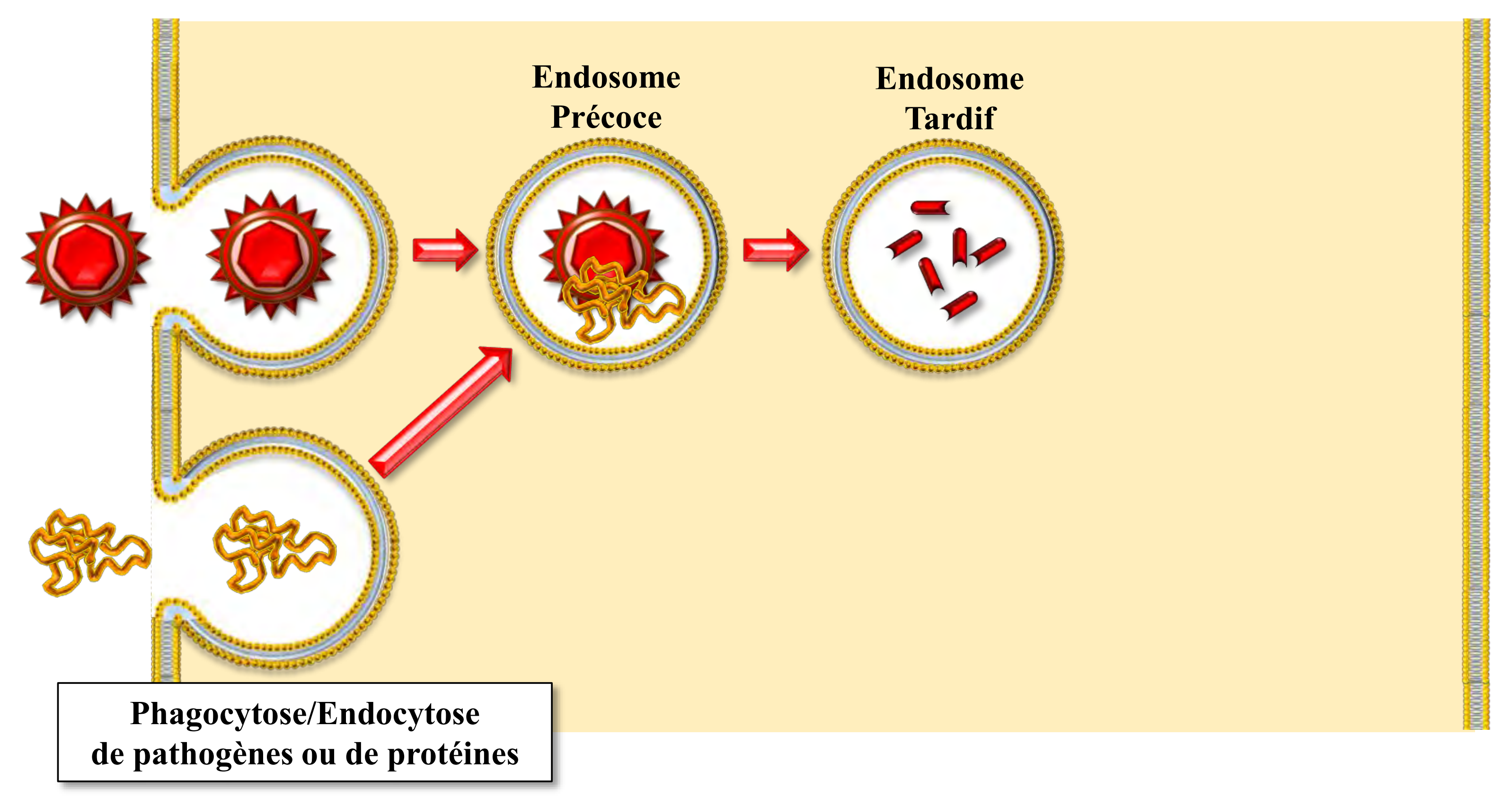
Présentation de peptides exogènes par les molécules HLA II

Captation et dégradation de l'antigène

Internalisation de l'antigène par :

- **Endocytose ➔ non spécifique**
- **Après fixation à des récepteurs spécifiques:**
  - **Ly B ➔ BCR**
  - **Macrophage ➔ RFc**

Dégradation dans des vésicules d'endocytose par des protéases agissant à PH acide.

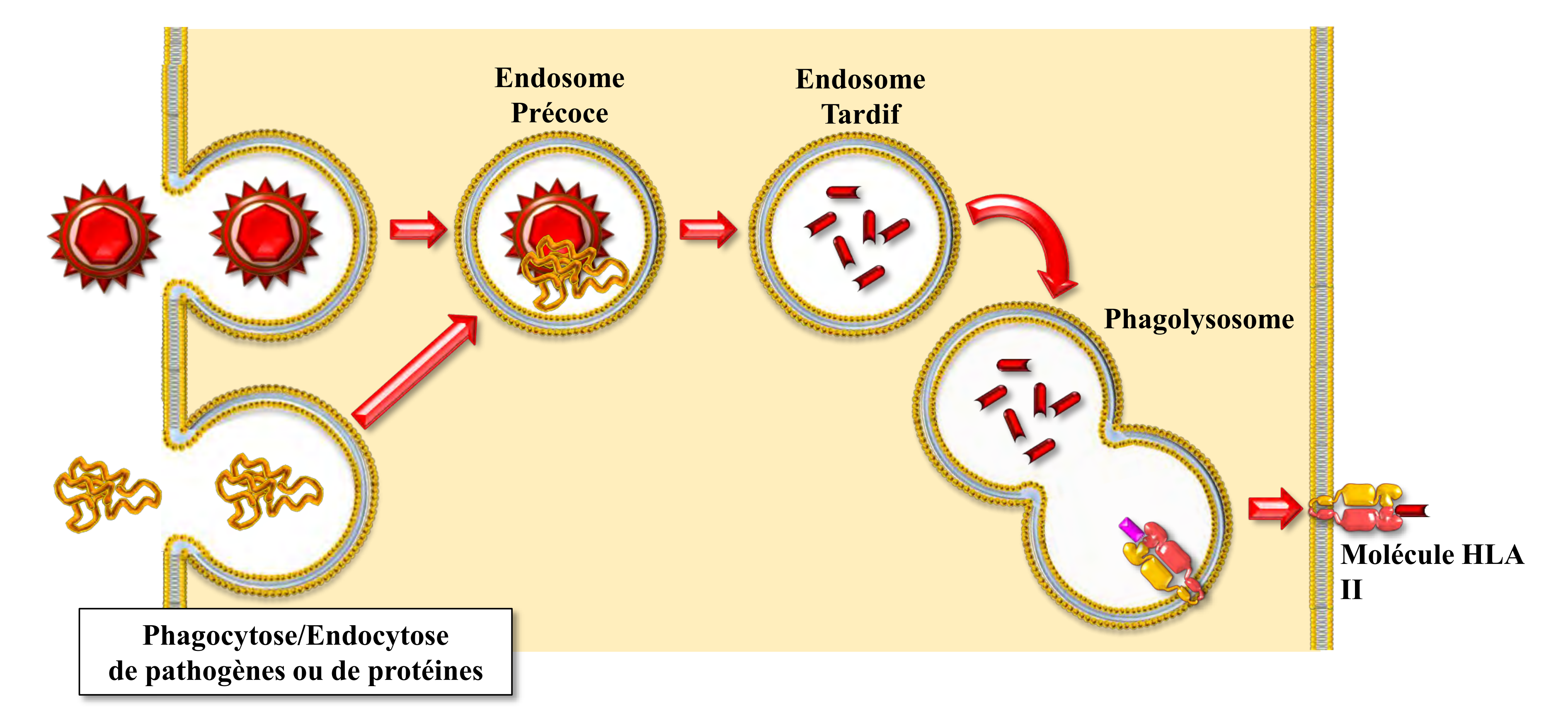


Présentation de peptides exogènes par les molécules HLA II

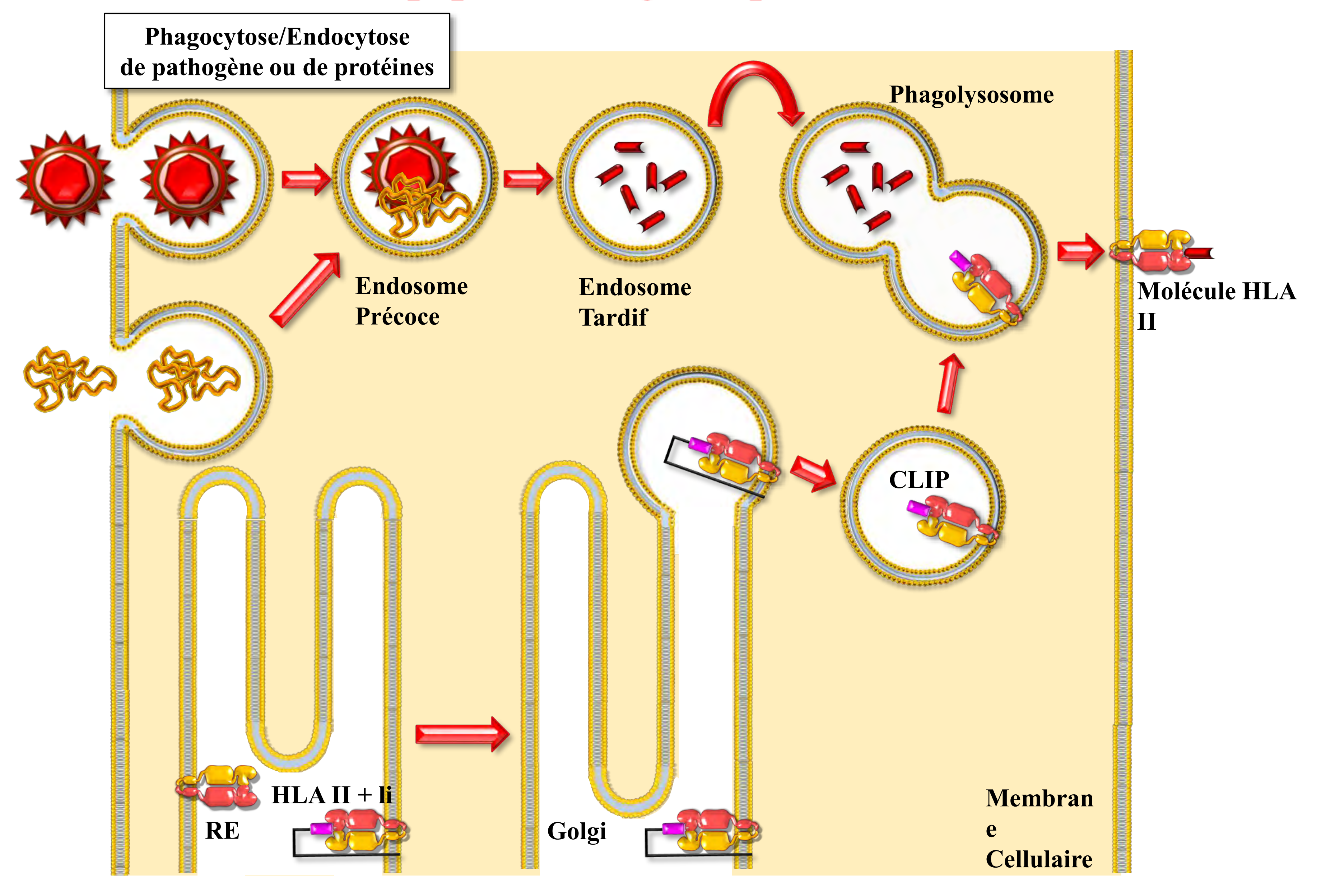
Liaison des molécules HLA II au peptide

Les molécules HLA DM s'associent au complexe HLA-CLIP, entrainent l'ouverture de la poche qui libère le peptide CLIP et permet au peptide exogène de se loger dans la poche.

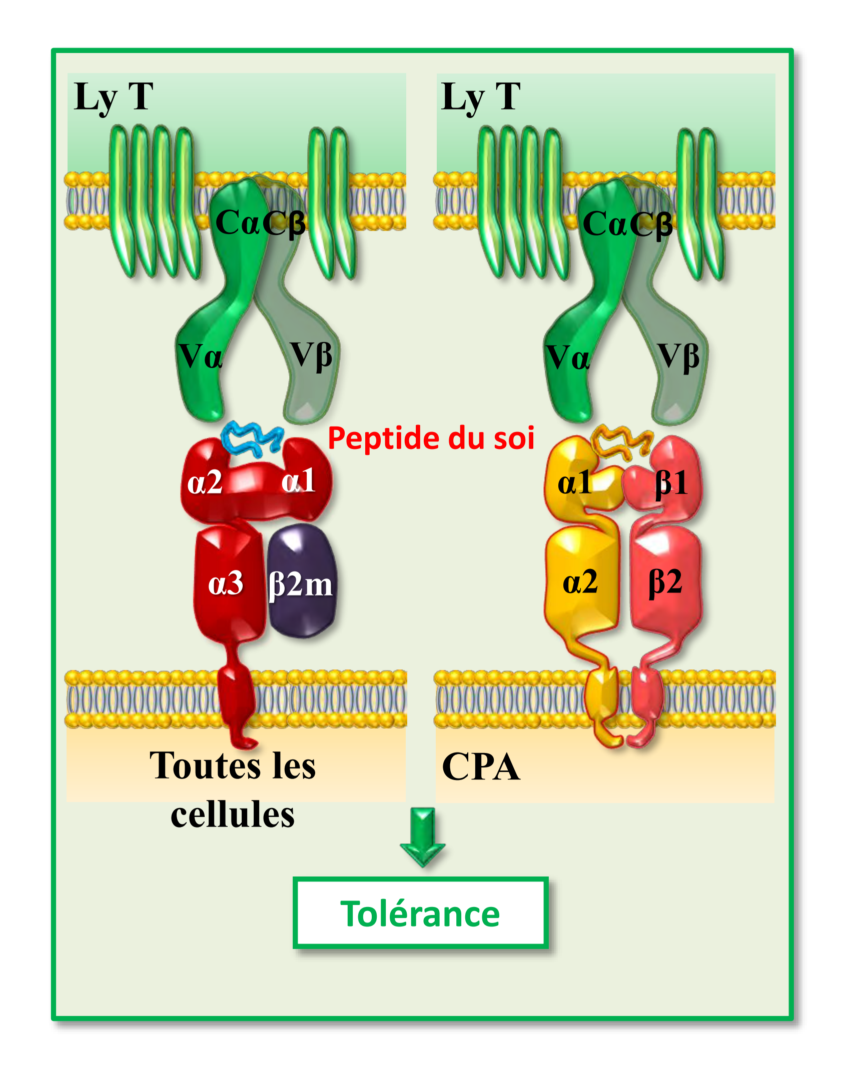
La structure HLA-peptide est alors stable ce qui lui permet de se diriger vers la membrane cellulaire.



Présentation de peptides exogènes par les molécules HLA II



Implications des molécules HLA

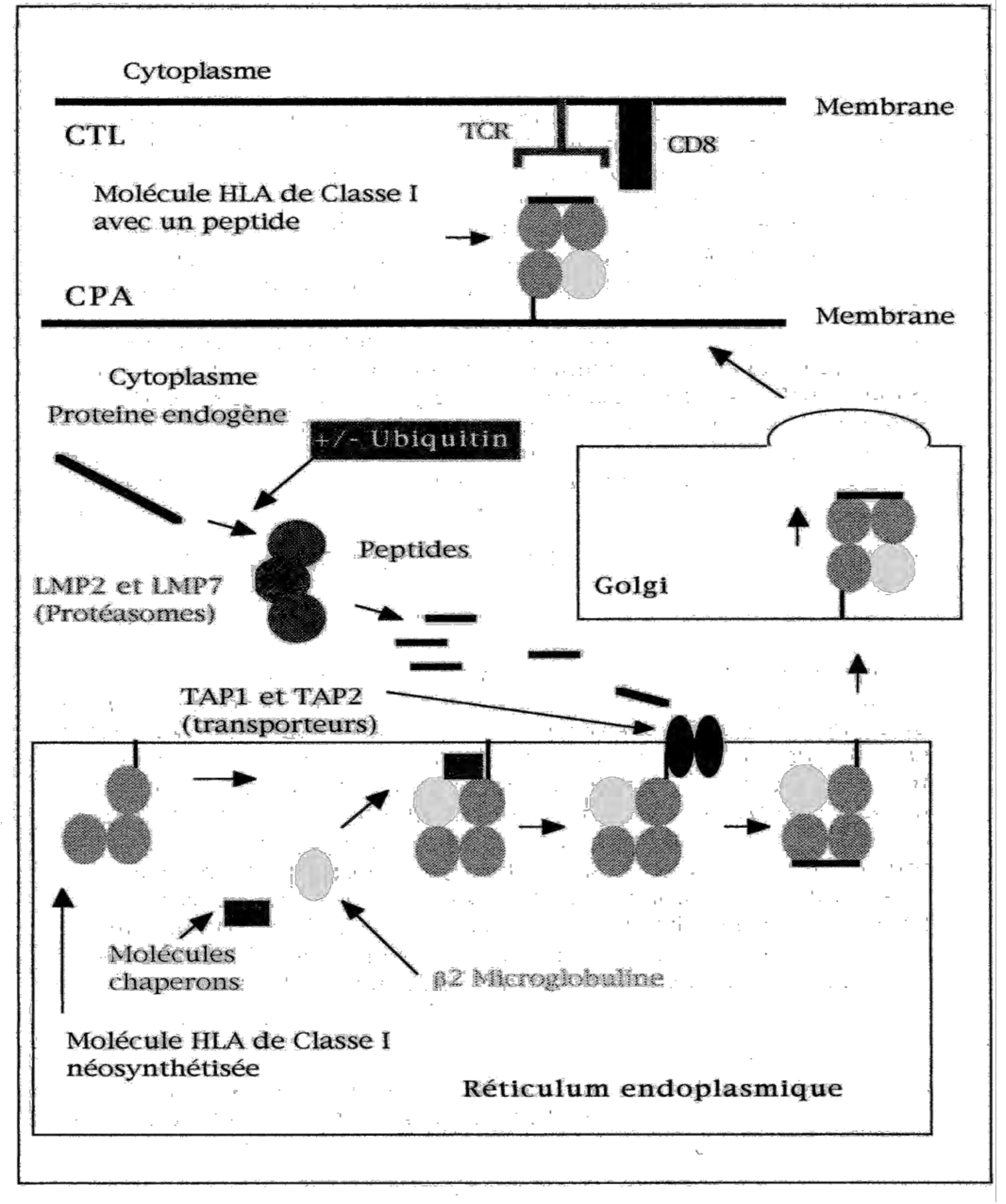


Ly T
Ly T
CαCβ
CαCβ
Vα
Vβ
Vα
Vβ
Peptide endogène
viral
Tumoral
Peptide exogène
α2
α1
α1
β1
α3
β2m
α2
β2
Toutes les cellules
CPA
RI CTL
RI T helper
Cytokines + Ac

Rôle majeur dans la défense anti infectieuse et anti tumorale

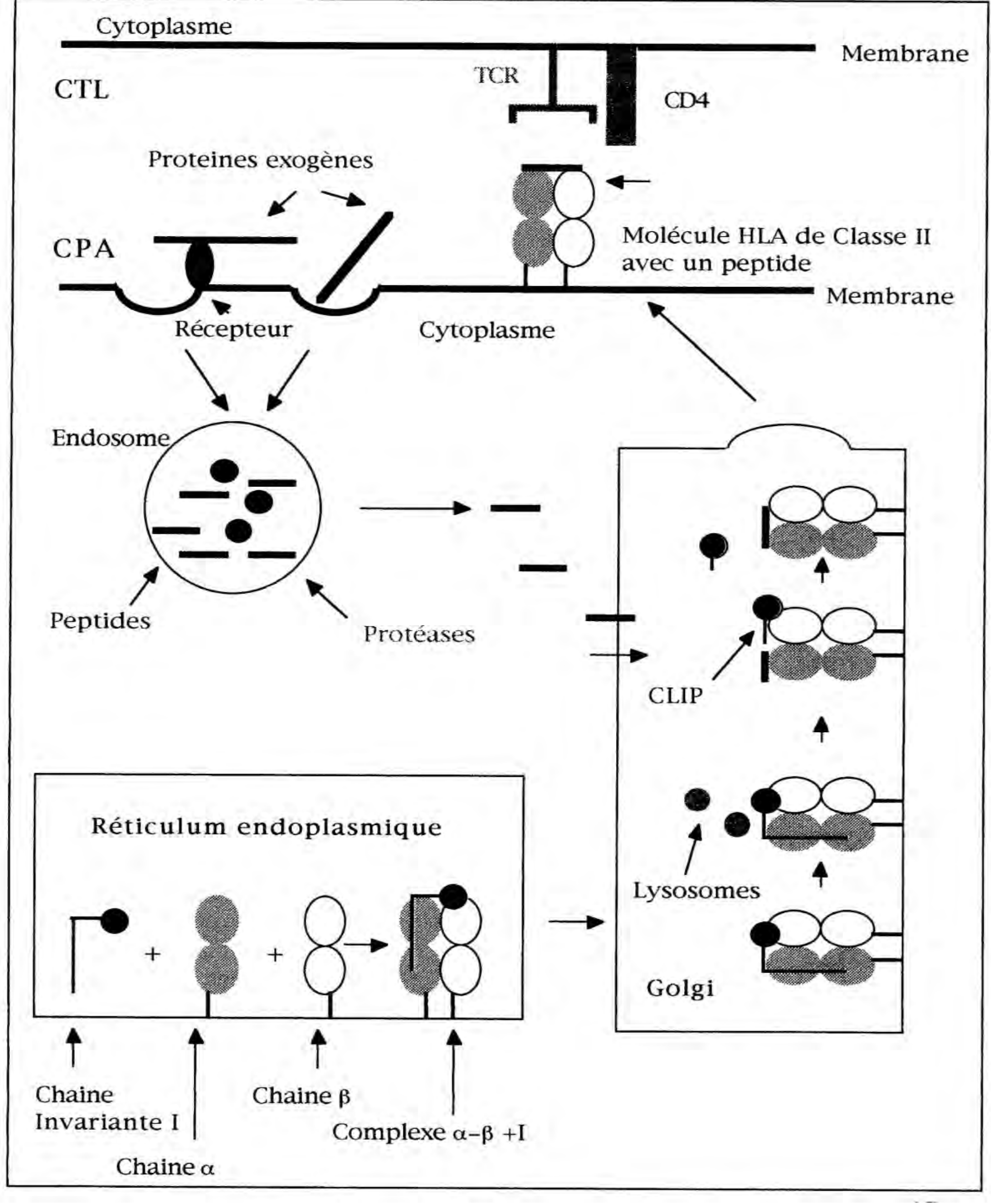
V- FONCTION DES MOLECULES HLA

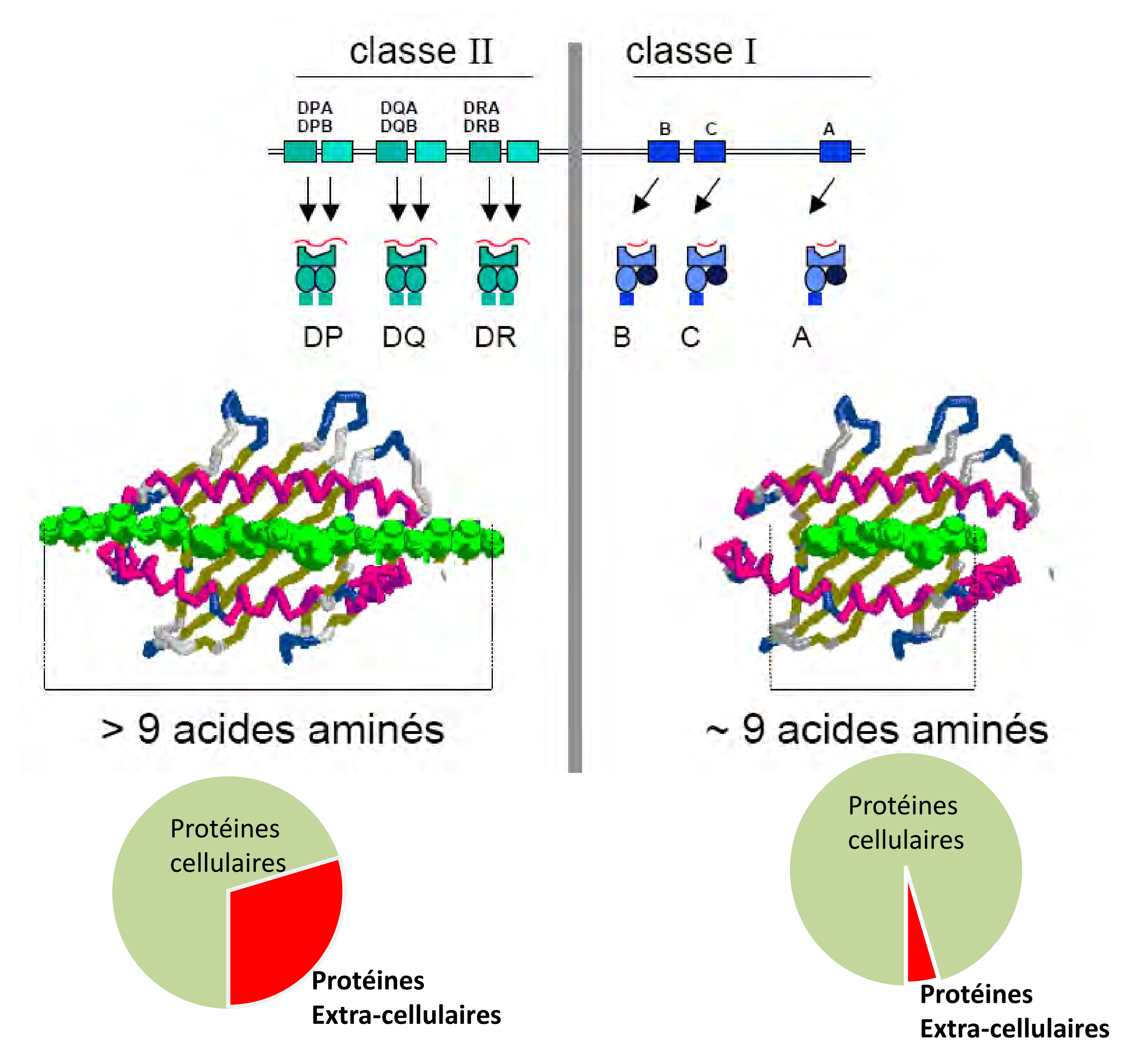
A- Assemblage de la molécule HLA de classe I et chargement du peptide



V- FONCTION DES MOLECULES HLA

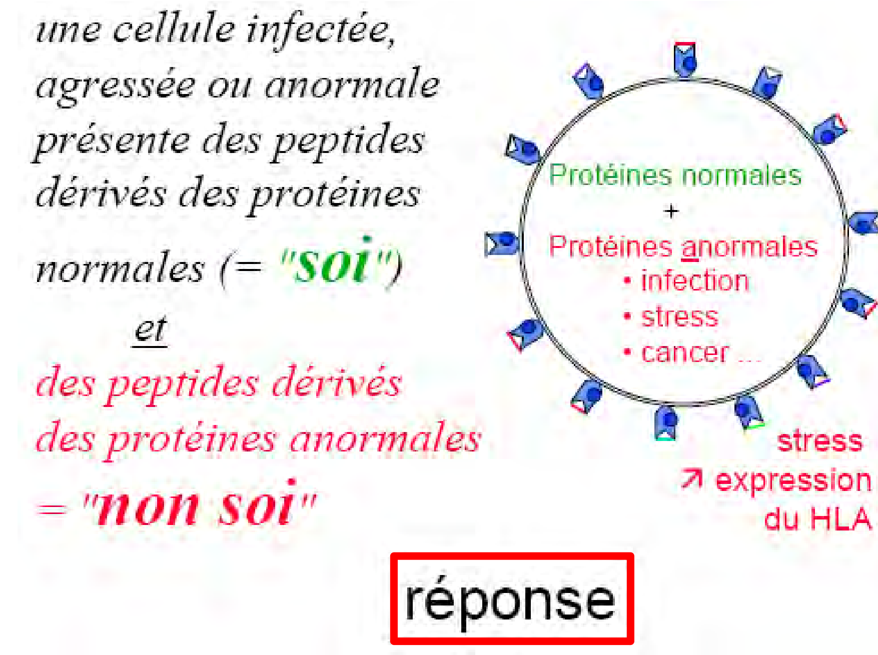
B- Assemblage de la molécule HLA de classe II et chargement du peptide




classe II
classe I
DPA
DPB
DQA
DQB
DRA
DRB
B
C
A
DP
DQ
DR
B
C
A
> 9 acides aminés
~ 9 acides aminés
Protéines cellulaires
Protéines Extra-cellulaires
Protéines cellulaires
Protéines Extra-cellulaires

Intérêt et conséquence de la présentation des antigènes





02 classes de molécules HLA ⇒ 02 populations de lymphocytes T:

Lymphocyte CD8

CD8+

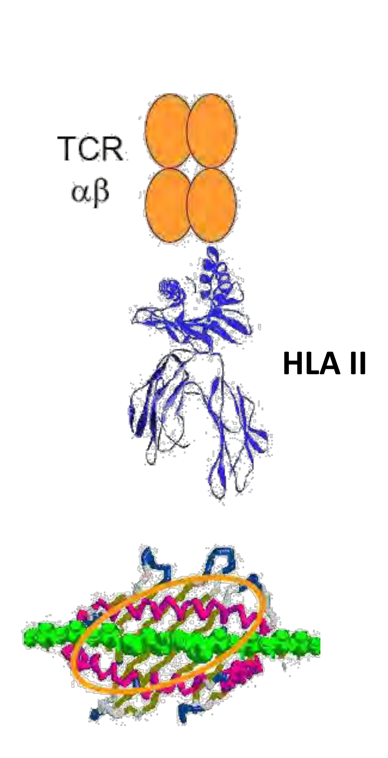
CD8

Cellules

TCR
αβ

HLA I





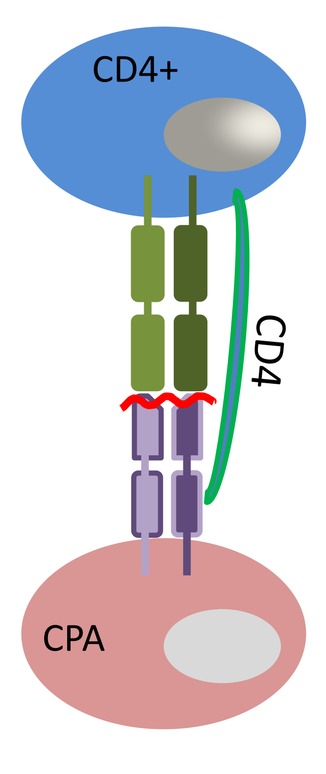


Tableau récapitulatif et comparatif

	Classe I	**Classe II**
Locus génétique	HLA **A**, HLA **B** et HLA **C** (Classiques) HLA E, HLA F et HLA G (Non classiques)	HLA **DP**, HLA **DQ** et HLA **DR**
Structure	Chaîne **α** + **β2 m**icroglobuline	Chaîne **α** + chaîne **β**
Expression cellulaire	Pratiquement toutes les cellules nucléées de l'organisme.	Cellules présentatrices de l'antigène , Macrophages , Lymphocytes B.
Impliqué dans la présentation de l'antigène aux :	Lymphocytes T CD8+ (cytotoxiques)	Lymphocytes T CD4+ (auxiliaires)
Origine du peptide présenté	**Protéines produites dans le cytosol +++**	**Protéines extracellulaires +++**
Domaines polymorphes	α1 + α2	α1 + β1

Techniques d'étude du complexe HLA

- A- Techniques sérologiques

  Grossesse, transfusion, transplantation
- Absorption sur plaquettes dépourvues en classe II
- B- Techniques cellulaires
- - Réponse prolifératives allogénique # MHC classe I
- C- Techniques de biologie moléculaire

Indications du typage HLA

- **Transplantation**
  - Moelle osseuse fichier national ou famille (fratrie)
  - Rénale
  - Cardiaque
- **Liens HLA maladie**
  - 40 affections liées à HLA

    Exemples :
- Diabète DR3 et DR4
- Maladie coeliaque DR3, DR4, DR7
- Spondylarthrite ankylosante HLA B27 : atteinte sacroiliaque

Rappels

Principales **cibles du rejet** = Antigènes de transplantation = Ag du CMH

Fonction physiologique des molécules du CMH = Présentation des Ag peptidiques

Tout être humain exprime :

Allèles de classe I HLA-A,B et C (06 allèles)

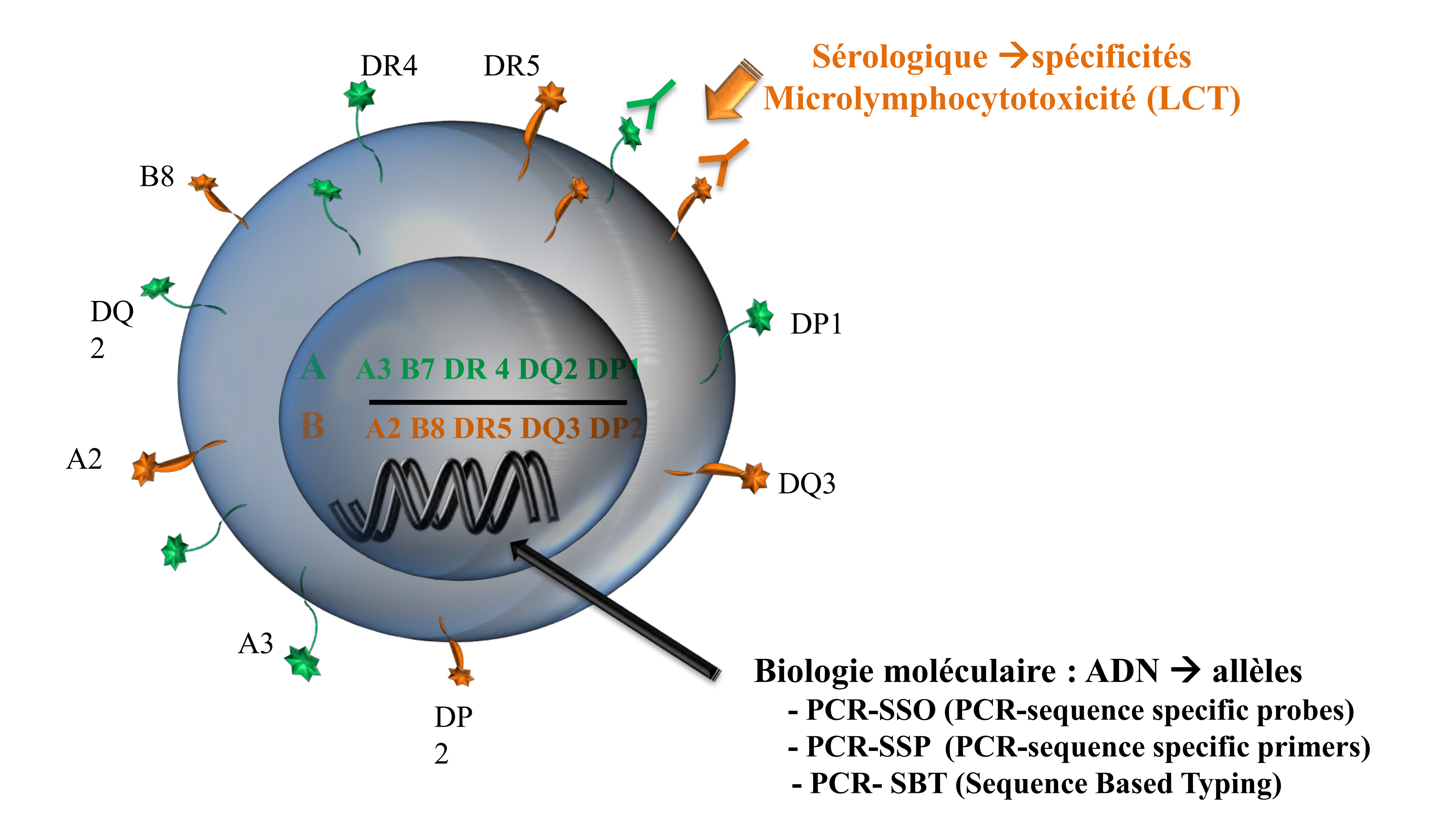
Allèles de classe II HLA DR, DQ et DP

Polymorphisme +++,
ainsi toutes les molécules peuvent constituer des **Cibles pour le rejet**
(HLA C et HLA DP) sont d'importance mineure : polymorphisme limité

Bien que les protéines du CMH soient les principaux antigènes responsables du rejet, d'autres protéines peuvent également jouer un rôle dans ce phénomène:

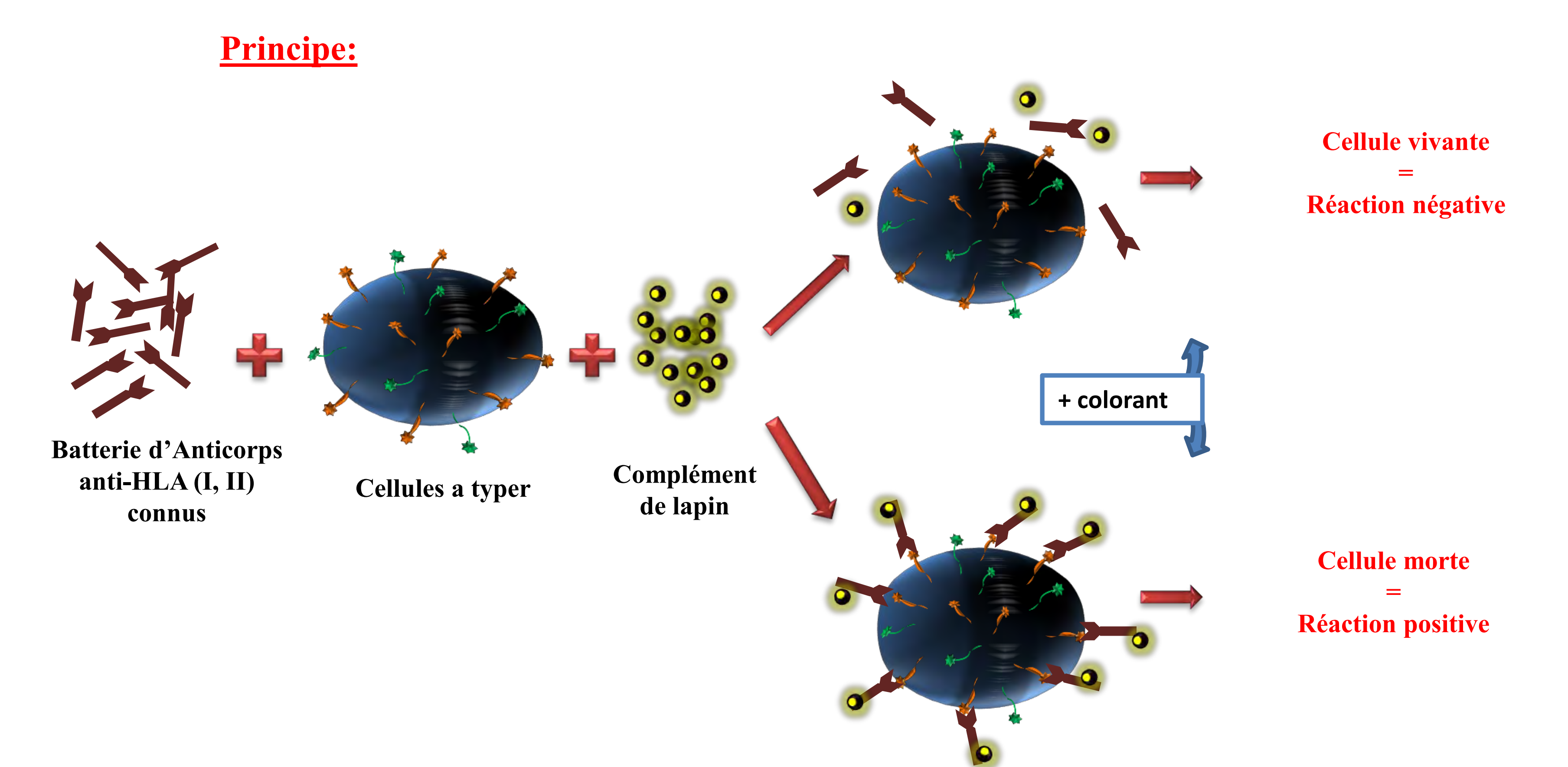
Les antigènes non CMH ou Ag mineurs d'histocompatibilité.

Techniques de typage HLA



LE TYPAGE HLA PAR SEROLOGIE

Principe:



TYPAGE HLA PAR SEROLOGIE

Inconvénients:

- Non expression des antigènes HLA dans certaines proliférations malignes
- Antisérums utilisés reconnaissent des épitopes essentiellement conformationnels privés ou publics
- Réactivités croisées sur de nombreuses molécules HLA(CREG) rendent nécessaire l'utilisation de plusieurs sérums monospécifiques
- Difficulté d'obtenir des sérums monospécifiques
- Rareté de certaines spécificités → Un seul antigène détecté



Recours à une technique de BM



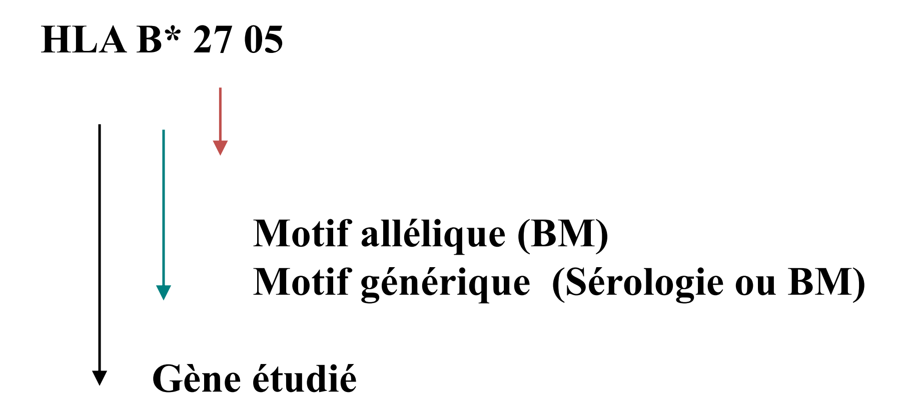
Typage HLA par biologie moléculaire

Deux niveaux de résolution:

Typage HLA : niveau générique ou basse résolution (2 digits)
Donne l'équivalent du résultat obtenu par sérologie.

Typage HLA de niveau allélique ou de haute résolution (4 digits)
détermine les sous variants alléliques

HLA B* 27 05



Le typage de niveau générique des gènes HLA –A, B et DRB1 : Suffisant en transplantations d'organes